

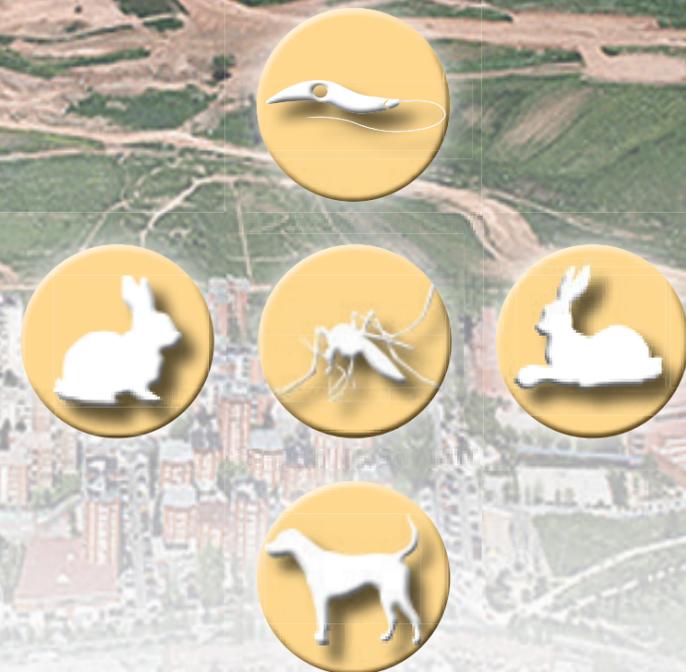
Este libro recoge los avances científicos llevados a cabo en la investigación del brote de leishmaniasis en el municipio de Fuenlabrada y colindantes de la zona suroeste de la Comunidad de Madrid.

La participación activa de las liebres y los conejos como reservorios principales implicados en la transmisión de la enfermedad ha supuesto un hallazgo de primer orden.

A su vez, se da a conocer el complejo modelo de gestión desarrollado para afrontar con éxito este brote, el más importante de la cuenca mediterránea, con múltiples mecanismos de coordinación y con la participación de un elevado número de profesionales.

BROTE DE LEISHMANIASIS EN FUENLABRADA Y OTROS MUNICIPIOS DE LA COMUNIDAD DE MADRID

EL PAPEL DE LAS LIEBRES Y LOS CONEJOS COMO RESERVORIOS



BROTE DE LEISHMANIASIS EN FUENLABRADA Y OTROS MUNICIPIOS DE LA COMUNIDAD DE MADRID:

EL PAPEL DE LAS LIEBRES Y LOS CONEJOS COMO RESERVORIOS



**Comunidad
de Madrid**

Dirección General de Salud Pública
CONSEJERÍA DE SANIDAD



COLEGIO OFICIAL
DE VETERINARIOS
DE MADRID



Esta versión forma parte de la Biblioteca Virtual de la **Comunidad de Madrid** y las condiciones de su distribución y difusión se encuentran amparadas por el marco legal de la misma.



www.madrid.org/publicamadrid

Edita:

Dirección General de Salud Pública
Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid

© Comunidad de Madrid

Colaborador:

Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid

Maquetación e impresión:

Central de Gráficas Asociadas, S.L.

Agradecimientos:

Inmaculada Mazarro
Miguel Ángel Ribes
Margarita García
Carmen Mendoza
Isabel de Miguel

Tirada: 2.000 ejemplares

Edición: Primera. Mayo 2017

ISBN: 978-84-451-3625-6

Depósito Legal: M-13775-2017

Impreso en España. *Printed in Spain*

PRESENTACIÓN

El brote de leishmaniosis al que se refiere este libro ha constituido uno de los mayores retos de salud pública a los que se ha enfrentado la Comunidad de Madrid en el siglo XXI.

Aunque inicialmente hubo una relativa lentitud en la respuesta del sistema, podemos afirmar inequívocamente que en la actualidad, la epidemia de leishmaniasis de la zona suroeste de Madrid está en vías de control, gracias a un ingente esfuerzo clínico, epidemiológico y técnico en el ámbito de la salud ambiental, que ha implicado tanto a profesionales de la Consejería de Sanidad, como del Ministerio y también de modo muy eficiente a los municipios y a la sociedad civil.

La finalidad de este libro es, en primer lugar, dar a conocer los avances científicos que se han producido en la investigación del brote. La participación de las liebres y los conejos en la transmisión de la enfermedad, es un hallazgo de primer orden, ya que hasta ahora se consideraba al perro como casi único reservorio de la leishmaniosis.

En segundo lugar, se plasma en él un modelo de gestión muy complejo, con variados mecanismos de coordinación, que ha logrado que la participación en el estudio de un gran número de

instituciones (Dirección General de Salud Pública de la Consejería de Sanidad, Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio, Ayuntamientos, Instituto de Salud Carlos III, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid, Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid (VISAVET), Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza y Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid) se llevara a cabo con éxito.

Por último, y no por ello menos importante, el libro pretende reflejar, pormenorizadamente, trabajos y experiencias que no han sido antes documentados y que esperamos sirvan para afrontar con garantía situaciones similares que se puedan dar en el futuro.

Mi más sincera enhorabuena a todos los que han participado en la resolución de este brote y en la elaboración del libro. Sin duda su trabajo y dedicación han conseguido un gran logro para la salud pública de la Comunidad de Madrid.

Jesús Sánchez Martos
Consejero de Sanidad

	<u>Página</u>
1. SITUACIÓN DE LA LEISHMANIASIS EN ESPAÑA	
HUMANA	
Situación de la leishmaniasis en España	13
Javier Moreno	
VECTOR	
Los flebotomos vectores de la leishmaniosis en España	17
Javier Lucientes	
Modelización de zonas de riesgo de leishmaniasis en la Comunidad de Madrid	23
Pablo Refoyo	
EL PERRO COMO RESERVORIO	
Tratamiento de la leishmaniosis canina	31
Jordi Cairó y José Miguel Costo	
Control de la leishmaniosis canina	41
Guadalupe Miró	
El papel del veterinario clínico en la vigilancia y diagnóstico de la leishmaniosis. Pautas sanitarias	49
Andrés Sánchez	
2. BROTE DE LEISHMANIASIS EN LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID	
GESTIÓN	
Gestión del brote de leishmaniosis	55
Felipe Vilas y Fernando Fúster	
Programa de vigilancia e intervención de leishmaniosis	65
Javier Bernal	
Actuaciones en el territorio	75
Servicio de Salud Pública de Área 9 y 10	
Actuaciones de formación, educación para la salud y comunicación	83
Ana Martínez & al	

	<u>Página</u>
VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA	
La vigilancia epidemiológica en el control de la leishmaniosis Ana M ^a Pérez & al	87
Situación de la leishmaniasis en la Comunidad de Madrid. María Ordobás & al	99
Brote de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid: detección e investigación epidemiológica Araceli Arce & al	105
Brote de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid: características epidemiológicas y factores riesgo Laura Moratilla & al	113
Brote de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid: evolución por temporada epidemiológica Alicia Estirado & al	125
Leishmaniasis visceral en el municipio de Fuenlabrada Juan Víctor San Martín & al	135
Leishmaniasis cutánea en el municipio de Fuenlabrada Marta Aguado & al	139
Seguimiento inmunológico y parasitológico de pacientes inmunocompetentes después del tratamiento frente a la leishmaniasis cutánea y visceral Eugenia Carrillo & al	147
Diagnóstico parasitológico y molecular de muestras clínicas humanas procedentes del brote de leishmaniasis del Área 9 de la Comunidad de Madrid (2009-2014) María Flores-Chavez & al	151
Importancia de la caracterización molecular en un sistema de vigilancia de la leishmaniasis . Mathieu Bangert & al	159
VECTOR	
Vigilancia del vector Ángeles Vázquez & al	171
Control del vector Andrés Iriso & al	177
Dinámica estacional, preferencias alimentarias y niveles de infección por <i>Leishmania</i> <i>infantum</i> en <i>Phlebotomus perniciosus</i> capturados en Bosque Sur (2012-2013) Maribel Jiménez & al	191
Xenodiagnóstico de la leishmaniosis: implicación de los lepóridos en el ciclo selvático de <i>Leishmania infantum</i> en Bosque Sur Ricardo Molina & al	197

	<u>Página</u>
RESERVORIOS: SILVESTRE Y DOMÉSTICO	
Infección por <i>Leishmania infantum</i> en fauna silvestre en el brote de leishmaniasis del Área 9 de la Comunidad de Madrid (2011-2014)	203
Carmen Chicharro & al	
Vigilancia epidemiológica de la leishmaniosis mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)	213
Inmaculada Moreno & al	
El papel de los animales de compañía como reservorio	221
Eloy Marino & al	
PLAN DE MEDIDAS DE CONTROL AMBIENTAL	
Medidas de control ambiental en el brote de leishmaniasis de la zona suroeste de la Comunidad de Madrid	231
D.G. del Medio Ambiente	
ANÁLISIS ESPACIAL	
Análisis espacial y condicionantes territoriales del brote de leishmaniasis en el sur del área metropolitana de la Comunidad de Madrid (2009-2014)	245
Emiliano Aránguez y Andrés Iriso	
LOS AYUNTAMIENTOS	
La Intervención municipal	267
María Juana Pablos & al	
3. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA	
Producción Científica	285

1. SITUACIÓN DE LA LEISHMANIASIS EN ESPAÑA

SITUACION DE LA LEISHMANIASIS EN ESPAÑA

Javier Moreno

*Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas,
Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.
Centro Colaborador de la Organización Mundial de la Salud para Leishmaniasis.*

La leishmaniasis comprende un conjunto de enfermedades infecciosas, causadas todas ellas por parásitos del género *Leishmania* y transmitidas por flebotominos, que muestran una gran diversidad de presentaciones clínicas que van desde las formas cutáneas autocurativas a las formas viscerales más severas. La leishmaniasis es endémica en 98 países y 3 territorios, la población en riesgo supera los 310 millones de personas, se calcula una prevalencia mundial de 12 millones de casos, una incidencia de 1,3 millones de casos y una pérdida de 2.357.000 años de vida ajustados en función de la discapacidad nuevos cada año ¹. Todo ello sitúa la leishmaniasis en el noveno lugar por importancia de las enfermedades infecciosas y en el segundo lugar de las enfermedades parasitarias más mortales. En los últimos años, la extensión y la incidencia de leishmaniasis en las zonas endémicas ha ido en aumento a consecuencia de factores como son el cambio climático, las transformaciones ambientales, las migraciones masivas y las condiciones de inmunosupresión, lo que ha contribuido a convertir la leishmaniasis en un importante problema de salud pública en numerosos países ².

La complejidad ecológica y epidemiológica de la leishmaniasis, la falta de herramientas sencillas y de fácil aplicación para el manejo de los casos, su mayor incidencia en la población más pobre de los países en desarrollo de África, Asia y América, añadido a la ausencia de datos exactos sobre su extensión y distribución, han hecho que no se tuviera en consideración la importancia de la leishmaniasis ni su carga de enfermedad y se incluyese por ello en el grupo de enfermedades tropicales desatendidas.

En 2007 la LX Asamblea Mundial de la Salud reconoció la leishmaniasis como una de las enfermedades tropicales más desatendidas y aprobó la resolución 60.13 en la que se promueve el inicio, mantenimiento y expansión de los programas de control de la leishmaniasis en los países miembro afectados. En la resolución 60.13 se destacó también la necesidad de actualizar la información sobre la extensión del problema de la leishmaniasis en los países de la región europea de la Organización Mundial de la Salud (OMS), donde esta enfermedad está subestimada y la carga real está sin determinar. Se estima que la incidencia de leishmaniasis en Europa corresponde al 2% de la carga global de la enfermedad en el mundo, pero también que la mayor parte de los casos, casi el 75%, se producen en Albania, Georgia, Italia y España ³.

En España la leishmaniasis es una zoonosis hipoendémica, causada por *Leishmania infantum*, presente en prácticamente todo el territorio peninsular y en las Islas Baleares, con distribución focal. El perro es el principal reservorio del parásito y los flebotomos de las especies *Phlebotomus perniciosus* y *Phlebotomus ariasi* son los vectores competentes para su transmisión. Cabe indicar que la transmisión que predomina en nuestro país es urbana y periurbana más que rural. La densidad de población, el modelo de crecimiento urbanístico y las modificaciones ambientales han hecho que el ciclo de transmisión se haya establecido en zonas urbanas y periurbanas. La incidencia media anual notificada es de 0,45 casos/100.000 habitantes, aunque parece claro que esta incidencia ha ido en aumento en los últimos años ⁴. Otro dato que confirma la importancia

de la transmisión de leishmaniasis en nuestro país es que la mitad de los casos de leishmaniasis visceral descritos en viajeros europeos que visitan el sur de Europa son adquiridos en España ⁵.

La leishmaniasis fue Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO) a nivel nacional desde 1982 hasta 1996 y durante ese periodo se registraron 1574 casos. Posteriormente, la descentralización del sistema de vigilancia sanitaria llevó a que fuera de declaración obligatoria dependiendo de cada comunidad autónoma, por lo que para conocer el número de casos de leishmaniasis ocurridos en nuestro país es preciso consultar registros como el Conjunto Mínimo Básico de Datos (CMBD) del Sistema Nacional de Salud español. De 1997 a 2011 el número de casos de leishmaniasis como diagnóstico principal recogidos en el registro de altas hospitalarias del CMBD asciende a 3455, y a estos cabe sumar otros 1511 casos de leishmaniasis reportados entre 2004 y 2011 en el registro de altas de Atención Ambulatoria Especializada del CMBD. La gran mayoría de los casos reportados al CMBD corresponden a leishmaniasis visceral, ya que esta es la forma clínica que requiere hospitalización para su tratamiento. No obstante, se sospecha una importante subdeclaración de casos, entre el 25% y el 40% para la leishmaniasis visceral y de prácticamente el 100% para los casos de leishmaniasis cutánea ⁶. La falta de información actualizada sobre la incidencia, extensión y distribución real del problema, el incremento sostenido del número de casos observado en los últimos años y los brotes declarados recientemente han hecho necesario introducir de nuevo la leishmaniasis en la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica como una enfermedad de declaración obligatoria en todas las comunidades autónomas ⁷.

Un tercio de los casos de leishmaniasis en nuestro país se producen en niños menores de 9 años, lo que está de acuerdo con la epidemiología tradicional de la infección por *L. infantum* en la cuenca mediterránea. Otro tercio (36,1%) corresponde a individuos adultos coinfectados con VIH ⁴. En efecto, la coinfección VIH/*Leishmania* ha tenido un fuerte impacto en la epidemiología de la leishmaniasis en España. La expansión de la infección por VIH en nuestro país dio lugar a una importante reemergencia de la leishmaniasis entre 1986 y 1996 debido al gran número de casos de coinfección reportados (la OMS registró 835 casos hasta 1998), lo que produjo, además, un cambio importante en la epidemiología de la infección por *L. infantum* ⁸. Los pacientes coinfectados presentan manifestaciones clínicas más severas que los individuos inmunocompetentes, además de una alta tasa de fracaso terapéutico y de recaídas para leishmaniasis ⁹. Desde 1996 el panorama de la coinfección VIH/*Leishmania* en España cambió radicalmente tras la introducción de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA), observándose una caída muy marcada en la incidencia

de esta enfermedad ¹⁰. A pesar de ello, la infección por VIH sigue siendo un factor de riesgo importante para el desarrollo de leishmaniasis visceral, tal y como muestran las cifras de casos actuales de coinfección antes mencionadas, ya que a pesar de estar bajo terapia TARGA, esta no alcanza a restaurar completamente la inmunidad de los pacientes y en caso de infección con el parásito la probabilidad de desarrollar la enfermedad es alta.

En la actualidad, otras condiciones de inmunosupresión, como las causadas por trasplantes de órgano sólido y los tratamientos biológicos inmunosupresores, se suman a la infección por VIH como factor de riesgo individual para la leishmaniasis visceral. El número de casos de leishmaniasis en pacientes receptores de trasplantes de órgano sólido se ha cuadruplicado desde los años 90 y la mayoría de los casos se han descrito en pacientes que viven en países de la cuenca mediterránea ¹¹. Por otro lado, se han asociado numerosos casos de leishmaniasis visceral con el uso continuado de medicamentos inmunosupresores como metotrexato o antagonistas del factor de necrosis tumoral-alfa como infliximab o etanercept, usados para tratar enfermedades autoinmunes. El riesgo de estas condiciones en el desarrollo de leishmaniasis merece una atención especial, ya que son situaciones cada vez más frecuentes entre la población española. Teniendo en cuenta que la leishmaniasis aparece distribuida por toda la península y Baleares, con mayor o menor prevalencia, es necesario prevenir el riesgo de infección entre los pacientes inmunodeprimidos y establecer las medidas de manejo y profilaxis adecuadas de los casos clínicos para evitar recaídas después del tratamiento ¹².

El perro es el principal reservorio de *L. infantum* y como tal juega un papel fundamental en el mantenimiento del parásito y su transmisión al ser humano por su proximidad con este. De hecho, la aparición de casos de leishmaniasis humana en zonas previamente no endémicas viene precedida por la aparición de vectores competentes y casos de leishmaniasis canina ¹³. Por tanto, el control de la leishmaniasis humana pasa necesariamente por el control efectivo de la infección en el perro. En España la incidencia de infección por *L. infantum* en los perros es muy alta, a diferencia de lo que ocurre en personas. Dependiendo de los aspectos ecológicos de cada área, el porcentaje de animales seropositivos oscila entre el 3,7% y el 34,6%, y aproximadamente la mitad de estos perros desarrollan la enfermedad, lo que representa un importante problema veterinario ¹⁴. Las encuestas que utilizan métodos de diagnóstico molecular como la PCR para detectar el parásito encuentran niveles muy altos de infección en perros de zonas endémicas como por ejemplo la isla de Mallorca, donde se alcanza el 67% de prevalencia ¹⁵, lo que indica que en estas zonas, probablemente todos los perros están expuestos a la infección por el parásito

en algún momento de su vida. La leishmaniasis canina, aunque no de forma exclusiva, es muy común en zonas residenciales periurbanas y suburbanas donde las casas unifamiliares y adosadas con un pequeño jardín o patio son habituales. Estos jardines son ambientes adecuados para el desarrollo del vector y para que entre en contacto con la también habitual mascota canina de la casa, lo que ha llevado a la domesticación del ciclo de transmisión.

En los últimos años han ido apareciendo diversos métodos de prevención con el fin de impedir la infección de los perros o, en su caso, evitar el desarrollo de la enfermedad. En estos momentos existen diferentes productos repelentes para evitar la picadura de flebotomos disponibles en forma de collares, lociones y pipetas, existe también un fármaco que estimula el sistema inmune de los perros y hay una vacuna profiláctica específica para proteger frente a la leishmaniasis canina. No obstante, a pesar de la diversidad de métodos preventivos existentes, son muy escasos los datos sobre el nivel de protección de la población canina en España y sobre el impacto que estos métodos tienen en la incidencia de leishmaniasis canina. En estos momentos, una vez que disponemos de herramientas adecuadas para su prevención, es preciso estudiar la situación actual de la leishmaniasis canina y evaluar el efecto

de estos métodos en los niveles de transmisión de *L. infantum*, con el fin de establecer una estrategia de control efectiva de la leishmaniasis canina que interrumpa la transmisión del parásito y que tenga impacto en la leishmaniasis humana¹⁶.

Por último, varios estudios han mostrado también evidencia de ciclos silvestres de transmisión en los que participan los vectores habituales pero los reservorios son mamíferos salvajes, no solo cánidos, sino también conejos y liebres^{17,18}. Aunque en estos casos es difícil establecer una influencia directa de estos ciclos silvestres sobre la leishmaniasis humana, si es cierto que los cambios ambientales y las actuaciones humanas pueden hacer que estos ciclos silvestres afecten directamente a las personas y sean capaces de generar brotes epidémicos tal y como ha ocurrido en el suroeste de la Comunidad de Madrid, donde se ha producido un importante brote de leishmaniasis cuya descripción detallada es el objetivo de este libro.

En definitiva, el control efectivo de la leishmaniasis en nuestro país requiere la vigilancia de los diferentes elementos que participan en su ciclo, vectores, reservorios animales y hospedadores humanos, con el fin de prevenir los efectos que sobre la transmisión del parásito puedan tener los cambios ambientales que se produzcan en el futuro.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ WHO (2013) Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: second WHO report on neglected tropical diseases. http://www.who.int/iris/bitstream/10665/77950/1/9789241564540_eng.pdf?ua=1
- ² Desjeux P. (2004). Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 27(5):305-18.
- ³ WHO (2014) Strategic framework for leishmaniasis control in the WHO European Region 2014-2020. WHO Regional Office for Europe http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0017/245330/Strategic-framework-for-leishmaniasis-control-in-the-WHO-European-Region-20142020.pdf?ua=1
- ⁴ Suárez Rodríguez, B., Isidoro Fernández B, Santos Sanz S, Sierra Moros MJ, Molina Moreno R, Astray Mochales J, Amela Heras C. (2012) Review of the current situation and the risk factors of *Leishmania infantum* in Spain. *Rev. Esp. Salud Pública* 86, 555–564
- ⁵ Eehalt U, Schunk M, Jensenius M, van Genderen PJ, Gkrania-Klotsas E, Chappuis F, Schlagenhauf P, Castelli F, Lopez-Velez R, Parola P, Burchard GD, Cramer JP (2014). Leishmaniasis acquired by travelers to endemic regions in Europe: a EuroTravNet multi-centre study. *Travel Med Infect Dis.* 12(2):167-72.
- ⁶ Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias (2012). Evaluación del riesgo de transmisión de *Leishmania Infantum* en España. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Madrid. <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/ analisisituacion/doc/leishmania.pdf>
- ⁷ Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (2013) Protocolos de enfermedades de declaración obligatoria. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/PROTOCOLOS_RENAVE.pdf
- ⁸ Alvar J, Cañavate C, Gutiérrez-Solar B, Jiménez M, Laguna F, López-Vélez R, Molina R, Moreno J. (1997) *Leishmania* and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. *Clin Microbiol Rev.* 10(2):298-319.
- ⁹ Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Cañavate C, Dedet JP, Gradoni L, Ter Horst R, López-Vélez R, Moreno J. (2008) The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev.* 21(2):334-59.
- ¹⁰ de La Rosa R, Pineda JA, Delgado J, Macías J, Morillas F, Mira JA, Sánchez-Quijano A, Leal M, Lissen E. (2002). Incidence of and risk factors for symptomatic visceral leishmaniasis among human immunodeficiency virus type-1 infected patients from Spain in the era of highly active antiretroviral therapy. *J Clin Microbiol;* 40:762-67.
- ¹¹ Antinori S, Cascio A, Parravicini C, Bianchi R, Corbellino M (2008). Leishmaniasis among organ transplant recipients. *Lancet Infect Dis.* 8(3):191-9.
- ¹² van Griensven J, Carrillo E, López-Vélez R, Lynen L,

- Moreno J. (2014) Leishmaniasis in immunosuppressed individuals. *Clin Microbiol Infect.*;20(4):286-99.
- ¹³ Maroli M, Rossi L, Baldelli R, Capelli G, Ferroglio E, Genchi C, Gramiccia M, Mortarino M, Pietrobelli M, Gradoni L. (2008). The northward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors. *Trop Med Int Health.* 13(2):256-64.
- ¹⁴ Miró G, Checa R, Montoya A, Hernández L, Dado D, Gálvez R (2012) Current situation of *Leishmania infantum* infection in shelter dogs in northern Spain. *Parasit. Vectors* 5, 60–66

LOS FLEBOTOMOS VECTORES DE LA LEISHMANIOSIS EN ESPAÑA

Javier Lucientes

Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Departamento de Patología Animal (Sanidad Animal).
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

Se conoce como Leishmaniosis a un conjunto de enfermedades parasitarias de transmisión vectorial producidas por diferentes protozoos del género *Leishmania* que afectan a un amplio rango de hospedadores vertebrados. En España la única especie presente es *Leishmania infantum*, que produce enfermedad en el hombre y el perro, pero que se ha detectado en una amplia variedad de otros mamíferos como gato, caballo, liebre, conejo silvestre, rata gris, zorro, lobo y pequeños mustélidos.

También está descrito en España y otros países del sur de Europa otro género muy próximo, *Sauroleishmania* que afecta a reptiles, como *Sauroleishmania tarentolae* que parasita a geckonidos, pero no producen enfermedad en mamíferos.

Esta transmisión de un hospedador vertebrado a otro se realiza por la intervención de hembras hematófagas de pequeños dípteros que pertenecen a la familia *Psychodidae* y subfamilia *Phlebotominae*. En Europa esta subfamilia está representada por dos géneros: *Phlebotomus* y *Sergentomyia*. Diferentes especies del Género *Phlebotomus* están relacionadas con la transmisión de las diversas especies de *Leishmania* entre mamíferos, mientras que el Género *Sergentomyia* es un reconocido vector de *Sauroleishmania* de reptiles, aunque recientemente se sospecha su posible implicación en la transmisión de *Leishmania infantum* en Senegal¹.

Fuera del lenguaje científico se conoce a estos insectos como flebotomos, que es el término técnico que utilizaremos en este texto, o Flebotominos cuando nos referimos a los integrantes de la subfa-

milia. En algunas regiones de España se les conoce con el nombre vernacular de beatas y beatillas.

Existe una gran especificidad cuando hablamos de los vectores de la Leishmaniosis, pues los flebotomos son los únicos artrópodos en los que se ha demostrado que *Leishmania* se multiplica activamente y adopta la forma infectante para los hospedadores vertebrados². Con técnicas de biología molecular se puede detectar ADN del parásito en otros artrópodos hematófagos (garrapatas de cuerpo duro, pulgas, otras familias de dípteros) que se han alimentado de vertebrados infectados por *Leishmania*, pero en los que nunca se ha demostrado que exista multiplicación ni transmisión de tipo mecánico.

Especies de flebotomos presentes en España

Solo se han identificado 11 especies de flebotomos en España perteneciente a dos géneros: *Sergentomyia* y *Phlebotomus*. De ellas dos especies son específicas de las Islas Canarias.

Sergentomyia (Sergentomyia) minuta (Rondani, 1843): España peninsular, Islas Baleares, Islas Canarias.

Sergentomyia (Sergentomyia) fallax, (Parrot, 1921): Islas Canarias.

Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi (Scopoli., 1786): España peninsular, Islas Baleares.

Phlebotomus (Larrousius) perniciosus Newstead, 1911: España peninsular, Islas Baleares, Islas Canarias.

Phlebotomus (Larrousius) ariasi Tonnoir, 1921: España peninsular, Islas Baleares, Islas Canarias.

Phlebotomus (Larrousius) langeroni (Nitzulescu, 1930): España peninsular.

Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti Parrot, 1917: España peninsular, Islas Baleares, Islas Canarias.

Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri Sinton 1928: España peninsular.

Phlebotomus (Paraphlebotomus) chabaudi Croset, Abonnenc y Roiux, 1970: España peninsular.

Phlebotomus (Transphlebotomus) mascitti Grassi, 1908: España peninsular.

Phlebotomus (Abonnencius) fortunatarum Ubeda Ontiveros y cols, 1982 : Islas Canarias.

Hay citada en la península otra especie africana, *Phlebotomus (Larrousius) longicuspis* Nitzulescu, 1930, pero algunos autores cuestionan la validez de estas identificaciones de España, basadas solo en detalles morfológicos, y las consideran como pertenecientes a *Phlebotomus perniciosus* del que son muy próximas ³.

Los Flebotomos vectores de la Leishmaniasis en España.

En España la única especie de *Leishmania* autóctona es *Leishmania infantum* ⁴ que se encuentra incluida dentro del complejo de *Leishmania donovani* ⁵. De todas las especies de flebotomos identificadas en España solo las pertenecientes al subgénero *Larrousius* están capacitadas para su transmisión ².

La especie más abundante y mejor repartida de este subgénero es *Phlebotomus perniciosus*, del que se ha aislado repetidas veces el parásito ⁶. *Phlebotomus perniciosus* se encuentra repartido y es abundante por prácticamente todo el territorio peninsular, excepto en la cornisa cantábrica, en todas las Islas Baleares, y también en las Islas Canarias, donde no parece ser muy frecuente. Ocupa gran variedad de hábitats y se localiza desde el nivel del mar hasta en zonas de montaña. La otra especie vector de *Leishmania infantum* en España es *Phlebotomus ariasi* ⁷. Presenta casi la misma distribución geográfica que *Phlebotomus perniciosus* pero prefiere hábitats menos áridos, siendo más abundante en las zonas climáticas más húmedas. Ambas son muy frecuentes en ambientes urbanizados. La tercera especie del subgénero *Larrousius* presente en España es *Phlebotomus langeroni*. Por el momento se conoce muy poco de su distribución en nuestro país. Está más relacionada con ambientes naturales y zonas muy xerofílicas. Hasta el momento solo se conoce su presencia en contadas localidades de las provincias de Madrid, Zaragoza y Granada. Aunque no se ha encontrado en España implicado en la transmisión de la Leishmaniasis, sí que es un comprobado vector del parásito en el Norte de África desde Egipto a Túnez ⁸.

Morfología de los Flebotomos

Los flebotomos son insectos pertenecientes al orden *Diptera*, familia *Psychodidae* y subfamilia *Phlebotominae*, y presentan una metamorfosis completa u holometábola pasando por los estadios de huevo, larva, pupa e imago o insecto adulto volador.

Morfológicamente los insectos adultos de la familia *Phlebotominae* o Flebotominos, son fáciles de identificar a pesar de su pequeño tamaño. Son insectos que miden entre 2 y 3 mm de longitud, de color beige oscuro o marrón claro, pudiendo observarse al microscopio abundantes sedas distribuidas por todo el cuerpo. La cabeza es de implantación algo inferior en el tórax, lo que le proporciona un aspecto giboso, tienen unos grandes ojos facetados negruzcos y largas antenas formadas por 14 artejos. Las patas son largas y frágiles, y las alas lanceoladas con la venación propia de la subfamilia y lo más característico es que cuando están posados o están picando, las alas las dejan separadas del cuerpo, levantadas en una posición abierta formando como una "uve". Los machos se distinguen a simple vista porque presentan el extremo posterior del abdomen engrosado debido a que poseen unos apéndices articulados que forman la genitalia externa, que destacan mucho y permite separarlos fácilmente de las hembras que tienen el extremo del abdomen más afinado.

Son estas estructuras ligadas con la cópula las que permiten diferenciar los machos de las distintas especies de flebotomos, en especial la morfología de los edeagos o valvas copuladoras. Las hembras también se diferencian por estructuras genitales internas como son las espermatecas, combinadas con la morfología de la faringe y la armadura cibarial ^{9,10}.

Los huevos son fusiformes de extremos redondeados, siendo uno de los laterales más convexo. Recién puestos tienen un color amarillo pálido, que se va oscureciendo hasta tomar un color marrón claro. Presenta la cutícula un punteado fino formando unas celdillas características. Su tamaño varía según las especies, pero en *Phlebotomus perniciosus* miden 0,35 x 0,12 mm ¹¹.

Los flebotomos tienen cuatro estadios larvarios de aspecto vermiforme. La cabeza bien diferenciada es de color marrón claro con un par de antenas cortas y aparato bucal de tipo masticador. El primer estadio larvario presenta en la zona del vértex un botón o diente de eclosión. El cuerpo es alargado, cilíndrico y segmentado. La parte torácica está formada por tres segmentos poco marcados y la abdominal por nueve. El noveno segmento abdominal posee dos largas sedas caudales características de los flebotomos.

La pupa mide unos 3 mm de longitud y tiene forma de porra. La parte abdominal, que es la más estrecha, está curvada, estando la cabeza y el tórax dirigidos hacia atrás. Los últimos segmentos de la

pupa están envueltos con la cubierta o exuvia del cuarto estadio larvario, con el que la ninfa se adhiere al sustrato. Las setas caudales de la larva se asemejan al ancla de un barco, siendo esta particularidad única entre los nematóceros ¹².

Ciclo evolutivo

La duración de su ciclo evolutivo depende de factores como la especie del flebotomo, del hábitat en el que se encuentra y sobre todo de la temperatura en la que se desarrolla. Todo el ciclo se lleva a cabo en ambiente terrestre, nunca en medios acuáticos, aunque necesita una humedad muy alta para su desarrollo. Lo poco que se conoce de sus lugares de cría es que se localizan en microhabitats con un alto contenido en materia orgánica. Se tiene mucha información con detalle del ciclo en laboratorio, pero no se sabe nada de la duración de las distintas fases del ciclo en ambiente natural.

En colonias de laboratorio a temperatura de 26 a 27 °C el ciclo completo dura entre 39 a 45 días ¹⁴. En una colonia de *Phlebotomus perniciosus* originaria de Madrid, a 28 °C y más del 95% de humedad, Molina ¹⁵ cita un tiempo de generación, desde la ingesta de sangre hasta la aparición de los nuevos adultos, de 38 días, de los cuales 5 días corresponden al tiempo de preoviposición, 5 días al periodo de incubación de los huevos, 19 al desarrollo larvario y 5 al desarrollo pupal. Este podría ser el desarrollo en condiciones óptimas en la naturaleza, pero la realidad es que al influir tanto la temperatura ambiental, y parece que de otros factores como el fotoperiodo, este ciclo puede variar muchísimo dependiendo de la época del año, siendo incluso de más de 8 meses debido al periodo de diapausa invernal que provoca una parada en el desarrollo de las diferentes fases larvarias.

Biología básica de los flebotomos adultos

Machos y hembras se alimentan de azúcares de origen vegetal que obtienen perforando los tejidos de algunas especies de plantas que se encuentran en el medio natural ¹⁶. También pueden conseguir estos azúcares de las secreciones de otros insectos como los pulgones (áfidos y cócidos) ¹⁷. Estos azúcares les proporcionan la energía necesaria para estar activos, pero las hembras, además, se alimentan de sangre de vertebrados que emplean para la maduración de los huevos.

Aunque las hembras de la mayoría de las diferentes especies de flebotomos necesitan ingerir sangre para realizar la maduración de los ovocitos y la puesta de huevos, hay algunas, por ejemplo *Phlebotomus mascitti* ¹⁸ o *Phlebotomus papatasi* ¹⁹ en las que no es obligatoria siempre esta toma de sangre, y pueden realizar una puesta de huevos, normal-

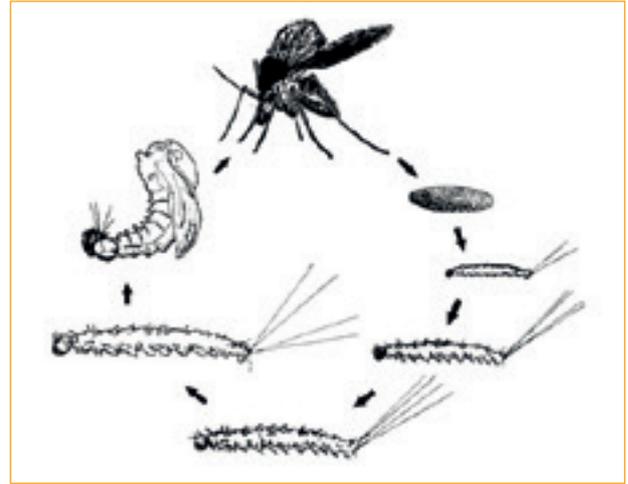


Figura 1. Fases del Ciclo evolutivo de los flebotomos ¹³.

mente en menor cantidad, sin ingerirla. Se denominan hembras autógenas y sería una adaptación para permitir la supervivencia de la especie en momentos críticos que no tengan acceso a hospedadores.

Las especies del subgénero *Larrousius* que son vectoras de la Leishmaniasis enzoótica canina realizan una puesta de huevos después de cada ingesta de sangre, es lo que se denomina concordancia gonotrófica. El número de huevos está en relación con la cantidad de sangre ingerida. Otras especies como *Phlebotomus papatasi* puede ingerir sangre varias veces, del mismo o de otro hospedador, hasta que completa un volumen mínimo que necesita para la puesta de huevos, es lo denominado discordancia gonotrófica. La cantidad de sangre ingerida por una hembra varía dependiendo de las especies y viene a corresponder con el peso medio de la hembra y es entre 0,25 y 05 mg ¹⁴.

Las hembras del género *Phlebotomus* se alimentan de animales de sangre caliente, mamíferos principalmente y también de aves, y suelen ser oportunistas. No manifiestan una clara preferencia por un determinado hospedador, va a depender de su disponibilidad en el ambiente en el que se encuentren. Así, en ambientes urbanos se alimentarán de perros, personas, ratones, gatos, mientras que en ambientes rurales se alimentarán también de ovejas, vacas, caballos y fauna silvestre (liebres, conejos, zorros, etc.) ^{20, 21, 22 y 23}. Por el contrario las especies del Género *Sergentomyia* se alimentan casi en exclusividad, al menos en Europa, de reptiles, sobre todo de gekonidos por las costumbres nocturnas que presentan. Recientemente se ha encontrado en Túnez una hembra de *Sergentomyia minuta* con sangre de ratón doméstico ²⁴.

La hembra pone los huevos normalmente en pequeños grupos en hábitats apropiados, pero aparentemente muy repartidos. Busca lugares que tengan materia orgánica de la que se alimentarán las larvas y un cierto grado de humedad. Cada especie

tiene requerimientos propios y así las hay que están adaptadas a ambientes áridos, incluso desérticos, mientras otras prefieren hábitats con mayor humedad ambiente como bosques u otros tipos de vegetación. Las especies que tienen más interés como vectores de enfermedades normalmente están muy ligadas a ambientes humanizados y se han encontrado criando tanto dentro de construcciones (leñeras, cobertizos con animales, sótanos, etc.) como en la vegetación de los jardines, en muros con oquedades o en lugares donde se acumulan basuras.

Son insectos que se desplazan relativamente poco de sus hábitats de cría, por eso se concentran normalmente en las proximidades de los lugares donde se encuentran sus hospedadores. La distancia de vuelo suele ser de unos pocos centenares de metros normalmente, menos de 300 metros en ambientes urbanizados, aunque en hábitats rurales pueden llegar a volar algo más de un par de kilómetros, sobre todo las hembras en busca de hospedador del que alimentarse²⁵.

Vuelan a poca altura del suelo, a menos de un metro. Es posible que, como otros dípteros hematófagos, vuelen en zigzag para detectar con más facilidad el rastro de componentes químicos que desprenden los hospedadores, que actúan como atrayentes. Sin embargo, su comportamiento es diferente cuando llega a una superficie vertical. En este caso dando pequeños vuelos, como saltitos, es capaz de desplazarse hacia la parte superior de las edificaciones, llegando a sobrepasar los 6 metros de altura²⁶, pudiendo penetrar fácilmente en el interior de las habitaciones.

Las dos especies vectores en España, *Phlebotomus perniciosus* y *Phlebotomus ariasi*, pican lo mismo dentro de las construcciones como en el exterior, es decir, presentan hábitos endófilos y exófilos. Aunque pican al hombre y a los animales dentro de las casas (especies endófilas) desaparecen de allí tras la alimentación, ya que prefieren los refugios naturales como lugar de reposo, son especies exófilas. Otras especies de *Phlebotomus* como *P. papatasi* se caracterizan por ser también endófilas, es decir, penetran dentro de las viviendas para alimentarse, pero permanecen allí durante varios días hasta finalizar la digestión sanguínea (especies endófilas).

Una peculiaridad de su conducta que tiene una importancia relevante en la transmisión de la Leishmaniasis en ambientes urbanos, es que algunas especies de flebotomos son fuertemente atraídas por la luz, presentan lo que se denomina un fototactismo positivo, especialmente demostrado en las especies *Phlebotomus perniciosus* y *Phlebotomus ariasi*²⁷, aumentando su atracción hacia las zonas habitadas y favoreciendo la entrada en los domicilios ocupados.

Los flebotomos adultos en la zona mediterránea presentan una actividad crepuscular y nocturna cuando las condiciones de temperatura y humedad

le son favorables¹², pero en cuevas y construcciones humanas donde haya poca luz pueden estar activos todo el día. Su actividad comienza al ponerse el sol y tienen un periodo de máxima presencia hasta la media noche²⁸ para descender casi hasta desaparecer a lo largo de la misma con un pequeño repunte de actividad al amanecer. Durante las horas centrales del día permanecen ocultos en lugares de reposo con temperatura no muy elevada, húmedos y oscuros. Pueden ser naturales como grietas del suelo, madrigueras, entre la vegetación espesa o contruidos por el hombre, habitaciones, fisuras y barbaccanas en los muros, etc. La actividad de los flebotomos está muy condicionada por la temperatura. Temperaturas entre 15 y 35 °C les permitiría desarrollar sus funciones vitales como ocurre en otros pequeños dípteros nematocera. En el caso de *Phlebotomus ariasi* a temperaturas de 16 °C están activos, pero no se alimenta, y por debajo de 15 °C dejan de tener actividad²⁵. Parece que temperaturas entre 20 y 26 °C son adecuadas, no solo para alimentarse, sino también para la multiplicación de *Leishmania* en su digestivo²⁹. Temperaturas altas, por encima de 42 °C, provoca la muerte de *Phlebotomus papatasi* en una hora de exposición³⁰.

Los machos emergen de la pupa antes que las hembras y necesitan de 12 a 24 horas para que haya rotación de la genitalia. La fecundación se realiza a partir de su segundo día de edad. La copula se hace oponiéndose el macho y la hembra y puede durar varios minutos. Se desplazan emparejados. Las hembras, al menos de *Phlebotomus ariasi*, necesitan ser fecundadas en cada uno de los ciclos gonotróficos³¹.

La cópula la suelen hacer en las proximidades de los lugares de cría, porque los machos, que solo se alimentan de azúcares, se desplazan muy poco. Pero también se les puede observar sobre los hospedadores, ya que algunos machos acuden a donde se encuentran estos animales y esperan la llegada de hembras sin fecundar para realizar la cópula, pudiéndola realizar antes, durante o después de alimentarse.

No se conoce cuanto pueden vivir en condiciones naturales en el medio ambiente. La expectativa de vida de las hembras es de 3 ó 4 ciclos gonotróficos, lo que corresponde a unas 4 semanas de vida en la naturaleza³².

Como son animales de sangre fría su actividad está condicionada por la temperatura ambiente. Durante los meses invernales los adultos desaparecen y, aunque se conoce muy poco lo que ocurre en ambiente natural, parece que son las fases larvarias, y sobre todo la larva de IV estadio la forma de resistencia invernal entrando en diapausa³³.

Los adultos comienzan su actividad normalmente entre marzo y junio, dependiendo de la región de España, y desaparecen con el primer descenso brusco de las temperaturas, que en muchas regiones coincide con la llegada de las primeras lluvias

importantes de otoño, en octubre o noviembre. Su periodo de actividad viene a estar comprendido entre cuatro a ocho meses. En zonas de montaña este puede acortarse a solo uno o dos meses de presencia. Dentro de una misma zona su distribución espacial, abundancia y periodo de actividad no son homogéneos y van a estar condicionados por el microclima de los diferentes habitats de cría presentes en la misma.

A lo largo de su periodo de actividad las poblaciones de flebotomos sufren fluctuaciones en su densidad, es lo que se conoce como fenología. La información que nos proporciona la fenología de cada especie en su área de distribución es de gran importancia para el conocimiento de la epidemiología de la Leishmaniasis, pues permite determinar las fechas de comienzo y finalización del periodo de transmisión y nos facilita la puesta en marcha de medidas de prevención y de control de estos dípteros. El estudio de las poblaciones de vectores permiten

igualmente conocer si presentan uno o varios picos de abundancia, lo que puede condicionar la existencia de varios periodos de transmisión de la enfermedad. En muchas zonas de España parece que las poblaciones, sobre todo de *Phlebotomus perniciosus*, tienen dos picos de abundancia, uno en primavera y comienzos de verano y otro en otoño. Este último seguramente más importante en la transmisión de la Leishmaniasis, porque se detectan un porcentaje mayor de hembras que han ingerido sangre previamente y, por lo tanto, será más grande la posibilidad de estar infectadas.

En un estudio realizado en la provincia de Madrid se detecta la presencia de *Phlebotomus perniciosus* desde el mes de mayo hasta noviembre con dos máximos de abundancia, el primero en julio y el segundo en septiembre, mientras que en la misma zona *Phlebotomus ariasi* presenta actividad desde mayo hasta octubre, pero solo con un pico de abundancia en agosto³⁴.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Senghor MS, Faye MN, Faye B, Diarra K, Elguero E, Gaye O, Bañuls AL, Niang AA. Ecology of Phlebotomine Sand Flies in the Rural Community of Mont Rolland (Thiès Region, Senegal): Area of Transmission of Canine Leishmaniasis. PLoS ONE. 2011; 6(3): e14773. doi:10.1371/journal.pone.0014773.
- ² Killick-Kendrick, R. Phlebotomine vectors of leishmaniasis: a review. Medical and Veterinary Entomology. 1990; 4: 1-24
- ³ Collantes F, Martínez Ortega E. Sobre la validez taxonómica de *Phlebotomus longicuspis* Nitzulescu, 1931 (Diptera: Psychodidae). Boletín de la Asociación Española de Entomología. 1997. 21: 141-146.
- ⁴ Martín-Sánchez J, Ruiz-Martínez F, Salinas-Martínez de Lecea JM, Sánchez-Rabasco C, Acedo Sánchez C, Sanchiz-Marín MC, Delgado-Florencio V, Morillas-Márquez F. *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 from southern Spain: characterization of the strains from human visceral and cutaneous leishmaniasis and from sandflies; with a numerical analysis of the isoenzymatic data. Systematic Parasitology. 1996. 33: 177-182.
- ⁵ World Health Organization (W.H.O.) La lutte contre les leishmanioses. Rapport de la réunion du comité OMS d'experts du la lutte contre les leishmanioses, Geneve 22-16 Mars 2010. 209 pp (2010).
- ⁶ Martín-Sánchez J, Guilvard E, Acedo Sánchez C, Volf-Echeverri M, Sanchiz-Marín MC, Morillas-Márquez F. *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911, infection by various zymodemes of *Leishmania infantum* complex in the Granada Province (Southern Spain). International Journal of Parasitology. 1994. 24: 405-408.
- ⁷ Guilvard E, Gallego M, Moreno G, Fisa R, Rispaill P, Prtalong F, Martínez-Ortega E, Gallego J, Rioux JA.- Infestation naturelle de *Phlebotomus ariasi* et *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: PSychodidae) par *Leishmania infantum* (Kinetoplastida-Trypanosomatidae) en Catalogne (Espagne). Parasite. 1996. 3: 191-192.
- ⁸ Guerbouj S1, Chemkhi J, Kaabi B, Rahali A, Ben Ismail R, Guizani I. Natural infection of *Phlebotomus (Larrousius) langeroni* (Diptera: Psychodidae) with *Leishmania infantum* in Tunisia. Transactions Royal Society Tropical Medicine and Hygiene.2007. 101:372-377.
- ⁹ Gállego-Berenguer J, Botet-Fregola J, Gállego-Vulleré M, Portús-Vinyeta M. Los flebotomos de la España Peninsular e Islas Baleares. Identificación y corología. Comentarios sobre los métodos de captura. Publicado en libro "In memoriam" al profesor Doctor D.F. de P. Martínez Gómez. Universidad de Barcelona (58): 579-600. 1992.
- ¹⁰ Tello Fierra A, Vázquez MA; González Mora D. Guía fotográfica de los flebotomos (Diptera, Psychodidae) de la Comunidad de Madrid. Reduca (Biología) Serie Zoología.2014. 7: 1-18.
- ¹¹ Colas Belcour, J. Contribution a l'étude du developpement de la biologie des formes larvaires del phlebotomes. These Faculte Medecine. París 93 pp. 1928
- ¹² Croset, H – Ecologie et systematique del Phlebotomini (Diptera Psychodidae) dans deux foyers, français et tunisien, de leishmaniose visceral. Essai d'interpretation epidemiologique. These Faculte Montpellier 516 pp (1969).
- ¹³ Rod Dillón. Introduction to Sand flies. Life cycle. 2008. Disponible en: http://pcwww.liv.ac.uk/leishmania/life_cycle_habitats.htm
- ¹⁴ Maroli M, Bettini S, Tricoli D, Khoury C, Perrotti E.- Studies on mating plug of two sandfly species, *Phlebotomus perniciosus* and *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae). Parassitologia. 1991. 33 (Suppl 1) 405-411.
- ¹⁵ Molina R (1991) Laboratory adaptation of an autochthonous colony of *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911 (Diptera: Psychodidae). Research and Reviews in Parasitology. 1991. 51 (1-4): 87-89.
- ¹⁶ Schlein Y, Yuval B. Leishmaniasis in the Jordan Valley IV. Attraction of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodi-

- dae) to plants in the field. *Journal of Medical Entomology*. 1987. 24: 87-90.
- ¹⁷ Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M. Honeydew of aphids as a source of sugar for *Phlebotomus ariasi*. *Medical and Veterinary Entomology*. 1987. 1: 297-302.
- ¹⁸ Guilvard E., Wilkes, T.J., Killick-Kendrick, R., Rioux, J.A. Écologie des Leishmanioses dans le sud de la France: 15. Déroulement des cycles gonotrophiques chez *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 et *P. mascitti* Grassi, 1908 en Cévennes. Corollaire épidémiologique. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 1980. 55: 659-664.
- ¹⁹ Schmidt ML. Autogenic development of *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) from Egypt, *Journal of Medical Entomology*. 1965. 1 (4):356,
- ²⁰ Alves-Pires C, Novo MT, Sousa CA. Os flebotomos de Portugal.VII- Preferencias hemáticas dos flebotomos (Diptera: Psychodidae) da Região do AltoDouro. *Boletim. Sociedade portuguesa Entomologia*. 1992. 2 (Suppl 3) 607-613.
- ²¹ Colmenares M de, Portus M, Botet J, Dobaño C, Gallego M, Wolff M, Seguí G. Identification of blood meals of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae) in Spain by a competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Biotin/Avidin method. *Journal of Medical Entomology*. 1995. 32: 229-233,
- ²² Molina R, Jiménez MI, Cruz I, Iriso A, Martín-Martín I, Sevillano O, Melero S, Bernal J. 2012. *The hare (Lepus granatensis) has potential sylvatic reservoir of Leishmania infantum* in Spain. *Veterinary Parasitology*. 2012. 190: 268-271.
- ²³ Jiménez M, González E, Iriso A, Marco E, Alegret A, Fuster F, Molina R.- Detection of *Leishmania infantum* and identification of blood meals in *Phlebotomus perniciosus* from a focus of human leishmaniasis in Madrid, Spain. *Parasitology Research*. 2013. 112: 2453-2459. DOI 10.1007/s00436-013-3406-3
- ²⁴ Jaouadi K, Haouas N, Chaaara D, Boudabous R, Gorcii M, Kidar A, Depaquit J, Pralong F, Dedet JP, Babba H. Phlebotomine (Diptera, Psychodidae) blood meal sources in Tunisian cutaneous leishmaniasis foci: could *Sergentomyia minuta*, which is not an exclusive herpetophilic species, be implicated in the transmission of pathogens? *Annals of the Entomological Society of American*. 2013. 106: 79-85.
- ²⁵ Killick-Kendrick R, Rioux JA, Bailly M, Guy MW, Wilkes TJ, Guy FM, Davidson I, Knechtli R, Ward RD, Guilvard E, Perieres J, Dubois H. Ecology of Leishmaniasis in the South of France. 20- Dispersal of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 as a factor in the Spreads of visceral leishmaniasis in Cévennes. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 1984. 59: 555-572.
- ²⁶ Rioux JA, Croset H, Houin R, Papierok B, Tour S. Observations sur les hauters de vol de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 *Annales Parasitologie Humaine et Comparée*. 1971. 46: 277-283.
- ²⁷ Killick-Kendrick R, Wilkes TJ, Alexander J, Bray RS, Rioux JA, Bailly H. The distance of attraction of CDC light traps to Phlebotomine sandfly. *Annales Parasitologie Humaine et Comparée*. 1985. 60: 763-767.
- ²⁸ Lucientes J, Palmero J, Guarga JL, Gracias MJ, Peribáñez MA, Zarate J, Castillo JA. Risk of transmission of canine Leishmaniosis in eastern Spain. *Veterinary Record*. 2005. 156: 743-744.
- ²⁹ Hlavacova J, Votypka J, Volf P. The effect of Temperature on Leishmania (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) Development in Sand Flies. *Journal of Medical Entomology*. 2013. 50:955-958.
- ³⁰ Theodor O. On the relation of *Phlebotomus papatasi* to the temperatura and humidity of the environment. *Bulletin Entomological Research*. 1946. 27: 653-671
- ³¹ Guilvard E, Rioux JA, Jarry D, Moreno G. 1985. Accouplements successifs chez *Phlebotomus ariasi* Tonnoir,1921. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 1985. 60:503
- ³² Dye C, Guy MW, Elkins DB, Wilkes TJ, Killick.Kendrick R. The life expectancy of phlebotomine sandflies: first field estimates from southern France. *Medical and Veterinary Entomology*. 1987. 1: 417-425.
- ³³ Ready PD, Croset H. Diapause and laboratory breeding of *Phlebotomus perniciosus* Newstead and *Phlebotomus ariasi* Tonnoir (Diptera-PSychodidae) from southern France- *Bulletin of Entomological Research*. 1980. 70: 511-523.
- ³⁴ Gálvez R, Descalzo MA, Miró G, Jiménez MI, Martín O, Dos Santos-Brandao F, Guerrero I, Cubero E, Molina R. (2010). Seasonal trends and spatial relations between environmental/meteorological factors and Leishmaniosis sand fly vector abundances in Central Spain. *Acta Tropica* 115: 95-102.

MODELIZACIÓN DE ZONAS DE RIESGO DE LEISHMANIOSIS EN LA COMUNIDAD DE MADRID

Pablo Refoyo

*Departamento de Zoología y Antropología Física.
Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid.*

Introducción y antecedentes

Los agentes responsables de las enfermedades parasitarias de los animales domésticos se conocen razonablemente bien, sin embargo, falta información sobre los parásitos que afectan a la fauna silvestre, que en muchos casos son responsables de zoonosis. Este desconocimiento desestima la importancia del concepto de "Salud Única" (ONE HEALTH), que reconoce explícitamente que muchas de las enfermedades emergentes surgen de la convergencia de los dominios humano, animal y ambiental. Desde esta perspectiva, la comprensión de los factores que promueven la aparición, el mantenimiento o la desaparición de zoonosis requiere un conocimiento detallado de los agentes implicados, sus relaciones ecológicas y su evolución temporal.

Un claro ejemplo de lo anteriormente comentado es el reciente foco de leishmaniosis en el sur de la Comunidad de Madrid. Este foco ha permitido mostrar, de forma explícita, la relación existente entre vectores transmisores de enfermedades con la fauna silvestre, además de sus complicaciones sanitarias en entornos naturales pero altamente antropizados (áreas naturales o seminaturales limítrofes de núcleos urbanos). Por otro lado, el uso creciente de estos espacios por parte de la población facilita las posibilidades de interacción entre los diferentes actores implicados (fauna silvestre, vectores de transmisión de enfermedades y seres humanos).

En este contexto se hace necesario empezar a implementar nuevas técnicas que nos permitan predecir las situaciones de riesgo futuras. Las recientes

técnicas de modelización de distribución de especies a partir, precisamente, de los datos de presencia conocida de las especies y de sus variables predictoras¹ son una de estas técnicas y se convierten en una herramienta fundamental para lograr estos objetivos. Los Modelos de Distribución de Especies (SDM, su acrónimo en inglés) nos permitirán determinar las áreas donde la posibilidad de presencia de los vectores y/o hospedadores es mayor y dentro de éstas las zonas de mayor riesgo para el ser humano, dada su proximidad a los hospedadores silvestres (los hospedadores domésticos son más fácilmente controlables).

Metodología

Para lograr este propósito debemos determinar, en primer lugar, las áreas más idóneas de presencia del vector para después establecer las zonas de riesgo para la población.

Determinación del área de distribución del vector

Se entiende como área de distribución de una especie aquella superficie del territorio en la que es factible la detección de ejemplares de dicha especie. Sin embargo, ¿qué ocurre cuando no podemos conocer de forma precisa esta superficie? ¿sería posible predecir dicha distribución?, es decir, ¿podríamos determinar de antemano si una zona concreta puede ser susceptible de albergar dicha especie? Actualmente, y gracias a los Modelos de Distribución de Especies disponemos de herramientas para responder, en parte, a estas preguntas.

Estas herramientas pueden ser especialmente útiles en el caso que nos ocupa, los trabajos de seguimiento realizados sobre el vector han puesto de manifiesto la presencia de *Phlebotomus perniciosus* con elevados valores de densidad en determinadas zonas del sureste de la Comunidad, coincidiendo con el foco de leishmaniasis detectado en la región. Los cambios ambientales recientes en el entorno de la zona (nueva red de carreteras, acciones de acondicionamiento ambiental con nuevas zonas verdes) y la presencia abundante de liebres, han podido tener influencia en la ecología del flebotomo, provocando un aumento de la población preexistente y una mayor cantidad de vectores infectantes². Pero, ¿podríamos determinar qué otras áreas de la región resultan idóneas para la presencia del vector y, por tanto, más susceptibles de presentar riesgos similares? Con los Modelos de Distribución de Especie, podemos determinar este grado de idoneidad del territorio para el vector y establecer qué áreas presentan una mayor probabilidad de riesgo. En cualquier caso no podemos olvidar que estamos hablando de probabilidad de riesgo y no de certeza de riesgo, por lo que la información debe considerarse como orientaciones sobre situaciones previsibles.

Para realizar la modelización se ha contado con los datos de presencia de la red de detección establecida por la Comunidad de Madrid, además de las trampas expresamente establecidas durante el foco detectado en el sur de Madrid. Sin embargo, y dada las características intrínsecas de esta red (muy localizadas a zonas de control de fauna doméstica), se completó la información con los muestreos de flebotomos realizados en estudios previos³.

Como se ha indicado, además de los datos de presencia de la especie, se hace necesario conocer las variables predictoras que definen los requerimientos ecológicos de la misma. En este sentido, los flebotomos, conocidos vulgarmente como moscas de los arenales o moscas jorobadas, son insectos dípteros que en la cuenca mediterránea prefiere paisajes accidentados⁴, con temperaturas medias diurnas de 20 °C y altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 1.500 metros³, por lo que las variables predictoras seleccionadas han sido:

1. Variables topográficas

Altitud: en España la altitud está correlacionada de forma negativa con las densidades de vectores, por lo que las zonas más altas son más restrictivas para la especie³.

2. Variables climáticas

Temperatura: elevadas temperaturas afectan a los estadios larvarios del vector⁵. La temperatura condiciona la supervivencia de los flebotomos y la velocidad de desarrollo de cada una de las etapas de su ciclo biológico^{6,7,8}. En este sentido, Chamaille y col., 2010⁹, establece la temperatura media anual

como variable importante en la distribución en Francia. Considerando estos estudios se ha tenido en cuenta la temperatura media anual y la temperatura media verano-otoño correspondientes a periodos con mayor afección y coincidente con la fecha de mayor actividad de la especie¹⁰ como variables predictoras.

Precipitación: las precipitaciones suficientes, pero no muy abundantes, están relacionadas con las densidades del vector¹¹, por lo que se han considerado como variables predictoras la precipitación anual y precipitación media de la primavera correspondientes a los periodos con mayor afección y coincidente con la fecha de mayor actividad de la especie¹⁰.

3. Variables bióticas

Vegetación/Usos del suelo: las densidades de vector son mayores en hábitat rural y en áreas no pavimentadas³.

Abundancias de hospedadores silvestres: los recientes estudios del Instituto de Salud Carlos III² han determinado que las liebres y conejos (*Lepus granatensis* y *Oryctolagus cuniculus*) son hospedadores de la leishmaniasis, por lo que se hace necesario conocer las abundancias de estas especies para toda la región. Para obtener esta información se han relacionado los rendimientos cinegéticos de algunos cotos de la región (datos oficiales de la Comunidad de Madrid) y las abundancias conocidas en los mismos¹². Dicha información posteriormente se ha extrapolado al resto de las áreas cinegéticas. La relación establecida entre ambas variables (abundancias/rendimientos) viene definida por los siguientes algoritmos (Tabla 1).

Por último, y para establecer el valor de abundancia en aquellos territorios sin datos de rendimiento (núcleos urbanos y cotos sin datos de capturas) se ha procedido a inferir la información de las zonas de caza a todo el territorio mediante una interpolación.

Todas las variables se representaron en formato digital Raster con una malla de 0,001° (equivalente a 100 m²).

Determinar las áreas de riesgo

Una vez obtenido el modelo para el vector debemos cruzar dicha información con las áreas donde

Tabla 1

ALGORITMO DE RELACIÓN ENTRE RENDIMIENTOS MEDIOS 2007-2012 (RCM= RENDIMIENTOS CINEGÉTICOS COMUNIDAD DE MADRID) Y ABUNDANCIAS (IKA= ÍNDICE KILÓMETRICO DE ABUNDANCIAS) PARA LA LIEBRE Y EL CONEJO

LIEBRE	CONEJO
$IKA = 0,6408 + 1,239 \cdot RCM$	$IKA = 0,8224 + 3,1588 \cdot RCM$

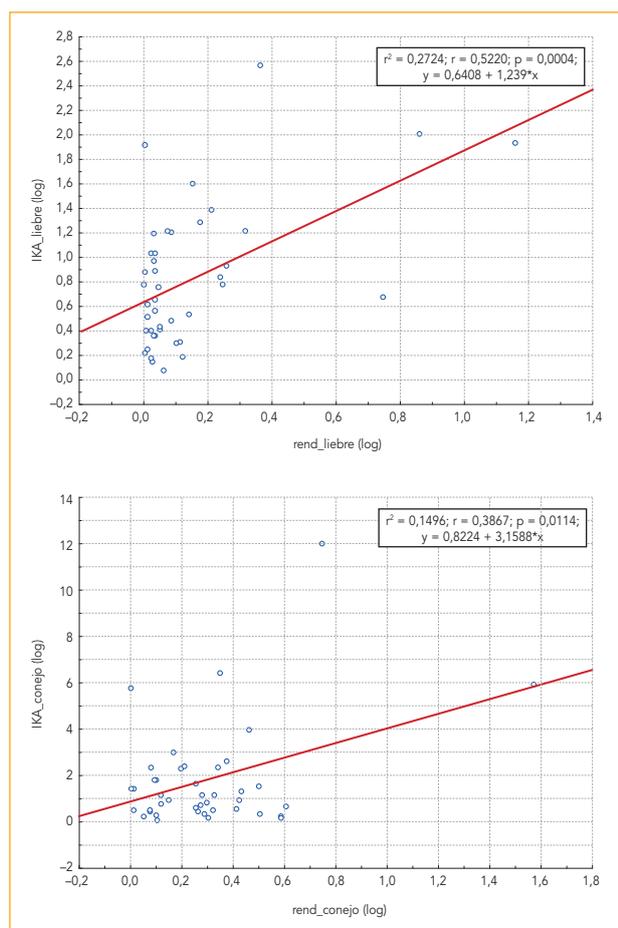


Figura 1. Relación entre rendimientos y abundancias para la liebre y el conejo (2006-2011).

la probabilidad de contacto con la población humana es mayor, algo relativamente sencillo con la utilización de un Sistema de Información Geográfico (SIG). Se han considerado las zonas con mayor probabilidad de contacto aquellas que, además de ser más idóneas para la presencia del vector, presentan una mayor densidad de población (núcleos urbanos) y/o ésta se ubica en entornos más naturales (áreas periurbanas, zonas verdes y zonas residenciales). El análisis combinado de todos los aspectos

considerados (los mapas de idoneidad del vector y presencia humana) nos permite establecer las áreas que presentan un mayor riesgo de incidencia, estableciéndose así las zonas prioritarias de actuación.

Resultados

Área de distribución del vector

El modelo establece que las variables que mejor explican la distribución de la especie son la vegetación, la abundancia de liebre y la altitud, además de las variables climáticas relacionadas con la temperatura media anual y la precipitación anual. Las abundancias de conejo y las variables climáticas trimestrales seleccionadas apenas son relevantes (Tabla 2).

En términos generales, las áreas idóneas en la Comunidad de Madrid, para los flebotomos corresponden, según el modelo, a medios abiertos típicamente mediterráneos. Resultan más relevantes los cultivos en mosaicos con vegetación arbórea (olivares con secano), matorrales y zonas boscosas muy abiertas, tanto de encinares como rebollares o pinares, con predominio de matorral o pastos; ubicados en altitudes medias (700 metros) con temperaturas medias anuales de 13,8 °C y precipitaciones anuales de 440 mm.

La superficie más idónea para el vector se localiza en una zona del centro y suroeste regional y en pequeñas áreas de distribuciones aisladas y dispersas el sur, oeste y noroeste regional. En la zona este y norte existen áreas con características adecuadas pero no óptimas, por lo que las probabilidades de presencia del vector son menores.

Determinación de las áreas de riesgo

Una vez obtenido el mapa de idoneidad y su superposición con los mapas de distribución de la población, la superficie actual considerada de riesgo elevado es de casi 61 km², de los que solo 22,3 km² puede considerarse de riesgo *Muy Alto* y 38,52 km² de riesgo *Alto*. De riesgo *Medio* la superficie afectada es de 95,52 km². El resto del territorio, 7.863 km² puede considerarse de riesgo muy bajo o bajo

Tabla 2

CONTRIBUCIÓN DE LAS VARIABLES AL MODELO DE DISTRIBUCIÓN DEL VECTOR

VARIABLE	PORCENTAJE DE CONTRIBUCIÓN AL MODELO
Vegetación	33,9
Abundancia liebre	18
Temperatura media anual	16,2
Altitud	15,1
Precipitación anual	7,8
Abundancia de conejo	3,9
Temperatura media Verano-Otoño	3,1
Precipitación de la primavera	2

(Figura 2). Estas superficies, sin embargo, pueden incrementarse con los pronósticos climatológicos futuros, que pueden aumentar la distribución del vector en zonas más septentrionales de la Comunidad de Madrid (Tabla 3).

La zona con mayor riesgo se centra en la zona centro (Madrid) y suroeste (Fuenlabrada, Leganés, Getafe, Humanes de Madrid y Parla). Existen otras zonas con riesgo elevado focalizadas en áreas colindantes entre Madrid y Pozuelo de Alarcón, en zonas de San Martín de Valdeiglesias, Alcobendas, Rivas-Vaciamadrid, Colmenar de Arroyo, Valdemorillo, Chapinería, Collado Mediano y Navacerrada. Existen otros municipios que, aunque actualmente presentan riesgo medio, pueden aumentar su nivel de riesgo dependiendo de los cambios climáticos esperables. Entre estos municipios están Alcorcón, Móstoles, San Agustín de Guadalix, El Molar, Miraflores de la Sierra, Bustarviejo, Navalcarnero, Arganda, Valdemoro y la zona de Soto Viñuelas (Figura 3).

1. Zonas de riesgo Alto o Muy Alto

Se han detectado 15 zonas que presentan un riesgo Alto o Muy Alto. Son áreas con una elevada densidad poblacional, bien durante todo el año, bien durante periodos concretos (fines de semana y periodos vacacionales), y/o con zonas de ocio próximas a entornos naturales (Tabla 4).

2. Zonas de riesgo Medio

Junto a las zonas anteriores, en las que se ha establecido un riesgo Alto o Muy Alto, existe una serie de zonas con riesgo Medio que no tienen porque representar un peligro inmediato para la población, pero que, con los esperados cambios climáticos pueden provocar que estas zonas puedan convertirse en área más adecuadas para los vectores y, por tanto, aumentar el riesgo para la población. Entre estos núcleos destacan: San Agustín de Guadalix, El Molar, Soto Viñuelas, Arganda, Valdemoro, Alcalá de Henares, Torrejón de Ardoz, Miraflores de la Sierra y Bustarviejo. En este apartado también se incluyen áreas con riesgos de valor Medio que se ubican junto a las zonas de riesgo Alto o Muy Alto (Tabla 4).

3. Otras zonas posibles

Existen otras zonas que pueden ser, en un futuro, posibles áreas a tener en cuenta. Estos núcleos se han detectado al realizar la modelización para el vector considerando, únicamente, su presencia en zonas no relacionadas con el foco detectado en el suroeste madrileño 3. Estas zonas, no necesariamente deben considerarse como zonas de riesgo, pero sí es conveniente considerarlas para establecer programas de control preventivos y vigilancia temprana. En términos generales son zonas donde la

Figura 2. Clasificación de la superficie regional (en Km² y en porcentaje) según nivel de riesgo.

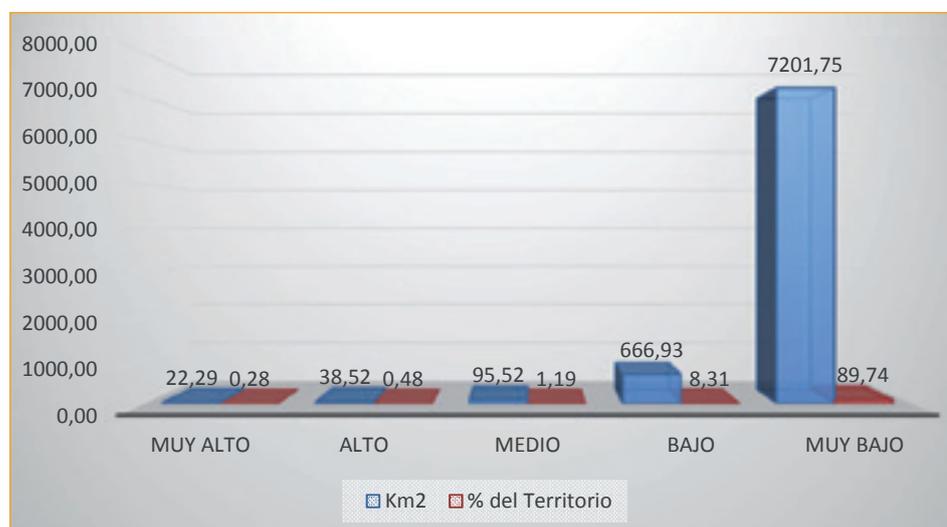


Tabla 3
SUPERFICIE REGIONAL SEGÚN CATEGORÍAS DE RIESGO

VALOR	IDONEIDAD DEL TERRITORIO	Km ²	% RESPECTO AL TOTAL REGIONAL
Muy Alto	0,8-0,91	22,29	0,28
Alto	0,7-0,79	38,52	0,48
Medio	0,504-0,69	95,52	1,19
Bajo	0,20-0,503	666,93	8,31
Muy Bajo	0-0,201	7.201,75	89,74

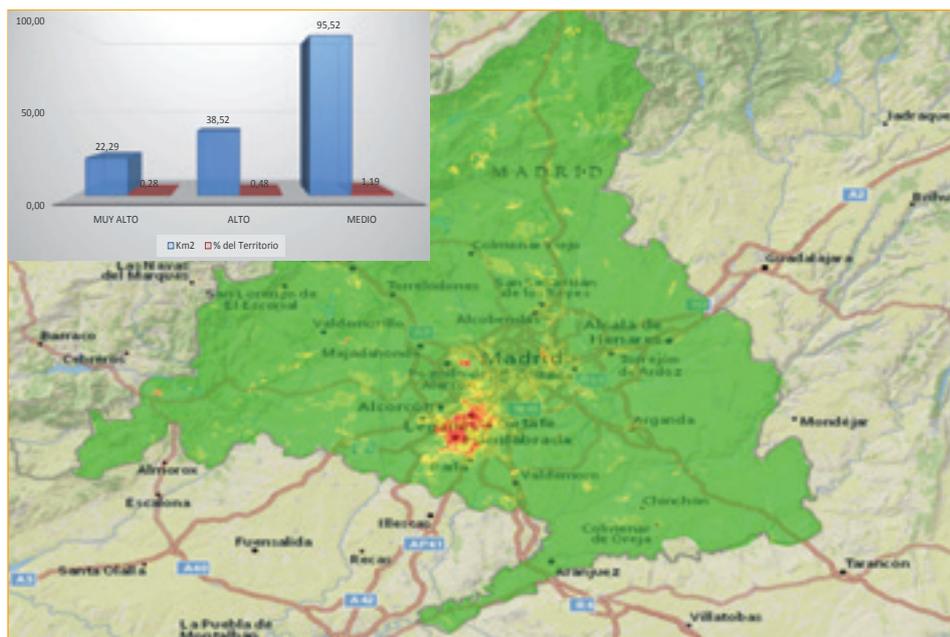


Figura 3. Mapa de riesgo para la Comunidad de Madrid (Rojo: riesgo Muy Alto; Naranja: riesgo Alto; Amarillo: riesgo Medio y Verde: riesgo Bajo o Muy Bajo).

densidad de población permanente es baja (fuera de los núcleos urbanos o sus inmediaciones) pero que, de forma esporádica, puede aumentar sus habitantes (fines de semana y vacaciones) y que con condiciones climáticas diferentes (posible incidencia del cambio climático) y un aumento de la densidad de lagomorfos, podrían reclasificarse en zonas de riesgo Alto o Muy Alto (Tabla 4).

Recomendaciones generales

Como recomendaciones para minimizar el riesgo de afección en estas zonas, se pueden considerar las siguientes:

Acciones generales

1. Aumento de información a la población:
 - a. Delimitación de las zonas de riesgo Muy Alto y Alto mediante carteles informativos.
 - b. Campañas de información en las zonas señaladas para que la población adquiera comportamientos adecuados.
 - c. Control veterinario de las mascotas.
 - d. Utilización de repelentes en las zonas de riesgo.
2. Consideración de los mapas de riesgo en la planificación urbana.

Tabla 4
ZONAS CON DIFERENTE NIVEL DE RIESGO

MUY ALTO O ALTO	MEDIO	OTRAS ZONAS
MADRID	MADRID	EMBALSE DE PINILLA
RIVAS-URBANIZACIONES	ALCALÁ HENARES	CANENCIA
ALCOBENDAS	TORREJÓN ARDOZ	GARGANTA DE LOS MONTES
POZUELO DE ALARCÓN	ARGANDA	MANZANARES DEL REAL
FUENLABRADA	VALDEMORO	SOTO DEL REAL
LEGANÉS	ALCORCÓN	MORALZARZAL
GETAFE	MÓSTOLES	REDUEÑA
PARLA	SOTO VIÑUELAS	VENTURADA
HUMANES DE MADRID	NAVALCARNERO	SAN AGUSTÍN DE GUADALIX
VALDEMORILLO	BUSTARVIEJO	SAN SEBASTIÁN DE LOS REYES
COLMENAR ARROYO	MIRAFLORES DE LA SIERRA	SANTOS DE LA HUMOSA
CHAPINERÍA	EL MOLAR	ALGETE
S.M. DE VALDEIGLESIAS		
NAVACERRADA		
COLLADO MEDIANO		

3. Las zonas de riesgo ubicadas en los polígonos industriales deben considerarse de riesgo menor, ya que la presencia de personas está ligada a la actividad industrial y los horarios de presencia no coinciden con los horarios de actividad del vector. Sin embargo, debe tenerse en cuenta a la hora de realizar la planificación urbana para que no se produzcan cambios en los usos de suelo (zonas de recreo, parques, etc.).

Acciones relacionadas con el medio

1. Limitar los movimientos de tierra en los territorios declarados como de riesgo Alto o Muy Alto a los periodos invernales, prohibiendo completamente esta actividad durante el resto del año.
2. Trabajos de mejora del medio con plantaciones específicas. En el establecimiento de áreas verdes se propone aumentar la cobertura arbórea y arbustiva con el fin de reducir la superficie de pastizales y potenciar, de esa manera, las zonas forestales frente a las áreas abiertas o con arbolado joven y disperso. Los estudios de modelización han determinado que las zonas abiertas con matorral alto o arbolado disperso son las más adecuadas para las especies implicadas, por lo que es conveniente que el porcentaje de este tipo de hábitat, en las zonas de riesgo, sea el menor posible.

Acciones relacionadas con el vector

1. Establecimiento de áreas de muestreo con trampas específicas para flebotomo en las zonas determinadas como de riesgo Alto o Muy Alto, siendo también aconsejable en las zonas consideradas como de riesgo Medio. La intensidad del muestreo debe ser proporcionada, estratificada y continuada en el tiempo, en las zonas de riesgo Alto o Muy Alto. La intensidad de muestreo debe ser alta, seleccionando las cuadrículas de 100 m² para la ubicación de las trampas atendiendo al riesgo y la densidad de población.
2. Campañas de control del vector con tratamiento específico para regular las poblaciones utilizando técnicas de desinsectación específica de espolvoreo y/o nebulización.

Acciones relacionadas con los hospedadores silvestres

1. Establecimiento de seguimientos continuados de los hospedadores silvestres mediante mues-

treos periódicos. Se aconsejan muestreos quinquenales.

2. Estudios de detección de hospedadores silvestres nuevos, especialmente relacionados con mamíferos exóticos.
3. Campañas de control de estos hospedadores silvestres.

Conclusiones

La modelización obtenida y el análisis realizado de la misma nos permiten establecer el siguiente decálogo de conclusiones:

1. La modelización obtenida resulta muy robusta y predice el área del foco actual.
2. La superficie predicha con riesgo Alto o Muy Alto es pequeña en relación a la superficie regional.
3. Sin embargo, dicha superficie, predominante en el centro, suroeste y oeste regional, se focaliza en áreas con una elevada densidad de población.
4. En total, se ha establecido una superficie de 156 km² con riesgo Medio a Muy Alto, lo que representa el 2,825% de la superficie regional.
5. La superficie afectada puede verse incrementada con los previsibles cambios climáticos que permitirá la expansión del vector y sus hospedadores a áreas más septentrionales.
6. Las predicciones establecidas con riesgo Alto o Muy Alto son superficies pequeñas que no deben entenderse como superficie total de riesgo sino más bien como áreas donde es posible el inicio de nuevos focos.
7. Las áreas donde debería prestarse especial atención debería corresponder a zonas predichas con valores desde Medio a Muy Alto ligadas a núcleos urbanos.
8. Es imprescindible el establecimiento de campañas de información y vigilancia en las zonas de riesgo.
9. Son necesarias campañas de control de los hospedadores silvestres, presentes y futuros, en las zonas de riesgo.
10. Son necesarias campañas de control del vector en las zonas de riesgo.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Phillips, S.J.; Anderson, R.P. and Shapire, R.E. (2006). A maximum entropy modelling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190, 231-259.
- ² Vilas F.; Carpintero J.; Sevilla S.; Martínez A.; Ordobás M.; Bernal J.; Díaz R.; Iriso A.; Sevillano O; Escacena C.; de la Fuente S.; Arce, A.; Estirado A.; Frutos J. y Fúster F. 2012. Brote de Leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid. Medidas de investigación y control Medioambiental. *Profesión veterinaria*, ISSN 2253-7244, Vol. 17, nº 79, 6-15
- ³ Gálvez Esteban, R. 2010. Factores que influyen sobre la epidemiología de la leishmaniosis canina y sus vectores en la Comunidad de Madrid. Obtención de modelos predictivos de riesgo mediante sistemas de información geográfica. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 77 pp. 163 pp.
- ⁴ Belazzoug S, 1991. The sandflies of Algeria. *Parasitol.* 33: 85–87.
- ⁵ El-Brady, A.; Al-Juhani; A.; Ibrahim, El K. and Al-Zubiany, S., 2008. Distribution of sand flies in El-Nekheil province, in Al-Madinah Al-Munawwarah region, western of Saudi Arabia. *Parasitol. Res*, 103, 151-156
- ⁶ Reisen, W.K., 2010. Landscape epidemiology of vector-borne diseases. *Annu Rev. Entomol.*, 55, 461-483
- ⁷ Oshaghi M.A.; Ravasan, N.M.; Javadian E., Rassi, Y. Sadaaei J., Enayati, A.A.; Vatandoost, H.; Zare, Z. and Emami, S.N. 2009. Application of predictive degree day model for field development of sandfly vector of visceral leishmaniasis in northwest of Iran. *J. Vector Borne Dis.*, 46, 247-255
- ⁸ Gage, K.L.; Burkot T.R.; Eisen R.J. and Hayes, E.B., 2008. Climate and vectorborne diseases. *Am. J. Prev Med.*, 35, 436-450
- ⁸ Chamaillé L, Tran A, Meunier A, Bourdoiseau G, Ready P and Dedet JP, 2010, Environmental risk mapping of canine leishmaniasis in France. *Parasit Vectors*, 3, 31.
- ¹⁰ Miró, G. y Molina, R. 2006. Leishmania canina: manejo clínico y situación actual en España. Bayer HealthCare Edition, 114 pp.
- ¹¹ Salomon, O.D.; Wilson, M.L.; Mustermann, L.E. and Travi, B.L., 2004. Spatial and temporal patterns of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis focus in northern Argentina. *J. Med. Entomol.*, 41, 33-39
- ¹² ETI, S.L. 2006. Aproximación a la situación de las especies cinegéticas en la Comunidad de Madrid. Informe técnico. Consejería de Medio Ambiente, Vivienda y Ordenación del Territorio.

TRATAMIENTO DE LA LEISHMANIOSIS CANINA

Jordi Cairó y Jose Miguel Costo

Hospital Veterinari Canis. Girona.

El tratamiento de la leishmaniosis canina ha sido objeto de estudio de numerosos autores desde finales de siglo XX. Si bien la opción más utilizada en la actualidad, la combinación de antimoniales pentavalentes y alopurinol, fue propuesta inicialmente, en los últimos años la búsqueda de alternativas más eficaces ha experimentado un avance notable.

A pesar de la extensa bibliografía referida en este campo, la curación completa y eliminación total del parásito sólo se obtiene en casos esporádicos, incluso con los tratamientos considerados más eficaces. Este hecho convierte a la mayor parte de animales tratados en portadores y, por tanto, perpetuantes de la infección en las zonas endémicas.

Opciones terapéuticas

1. Alopurinol

El alopurinol es un fármaco hipoxantínico que al ser metabolizado por el parásito conduce a la formación de 4-amino-pirazolopirimidina ribonucleótido trifosfato, un compuesto tóxico análogo de ATP. Cuando este metabolito se incorpora al ARN de la leishmania, se inhibe la síntesis de proteínas. Este fármaco ejerce un efecto leishmanioestático, con lo que carece de efecto parasiticida.

Las primeras referencias del uso de alopurinol para el tratamiento de la leishmaniosis canina datan de 1995, en los que se describía una buena respuesta en los primeros meses de tratamiento.^{1,2} A raíz de estas publicaciones se desarrollaron nuevos estudios con mayor número de casos y con seguimiento más prolongado, pero con resultados dispares. El porcentaje de animales tratados y considerados clínicamente curados tras el periodo de estudio variaban desde 18%,³ 50%,⁴ 90%⁵ y 100%,⁶ sin embargo,

estos datos son difíciles de extrapolar puesto que los criterios de inclusión, el cuadro clínico inicial, los protocolos y el concepto de "mejoría clínica" difería entre los distintos trabajos.

Además del cuadro clínico, algunos estudios a largo plazo demostraron que la monoterapia con alopurinol no conseguía normalizar parámetros laboratoriales como el ratio albúmina/globulina,^{5,7} mientras que otros conseguían mejorías analíticas significativas.⁴

Las dosis estudiadas abarcan desde 20 a 40 mg/kg al día, normalmente dividida en dos tomas. Se ha demostrado que las dosis más altas no se correlacionan con una mejor respuesta terapéutica⁸ aunque su uso a largo plazo (6 meses como mínimo) sí se asocia con una mayor eficacia.^{5,6} Actualmente la dosis más recomendada es 10 mg/kg cada 12 horas.^{9,10}

La duración de tratamiento con alopurinol es un tema bastante debatido y poco definido. Un comité de expertos recomienda suspenderlo cuando se alcanza la recuperación completa física y clínico-patológica al menos un año tras la administración inicial y los niveles de anticuerpos sufren un marcado descenso (negativo o borderline en métodos cuantitativos).¹⁰

Este fármaco es muy seguro y bien tolerado. El único efecto secundario atribuible a su administración es la formación de urolitiasis de xantina; este hallazgo es poco frecuente,¹¹⁻¹³ aunque el avance de las técnicas de imagen como la ecografía abdominal han aumentado su diagnóstico en los últimos años.

2. Antimoniales pentavalentes

El antimonio de meglumina (Glucantime®, Merial), combinación de antimonial pentavalente y N-metil D-glucamina, es el fármaco más utilizado y

ha sido propuesto como el mejor fármaco leishmanicida.⁸ El mecanismo de acción consiste en la inhibición de las enzimas requeridas por el parásito para la oxidación glucolítica y de los ácidos grasos. Además de la forma libre, existe una formulación comercial de N-metilglucamina encapsulada liposomal, que mantiene un mayor nivel plasmático del producto, con mayor volumen de distribución y eliminación más lenta; sin embargo, la relación coste-beneficio comparada con la opción convencional es muy debatible.¹⁴

Las primeras evidencias proponían un protocolo de inyecciones subcutáneas de 100 mg/kg/día durante 15-20 días o 200 mg/kg cada 48 horas durante 30-40 días, con periodos de descanso de unos 10 días.¹⁵ Estas pautas se asociaban a efectos secundarios habituales como dolor muscular, reacciones locales y parálisis de nervios periféricos, y junto a referencias que sugerían el desarrollo de resistencias tras el uso repetido¹⁶ llevaron a cuestionarse nuevas medidas.

La mejor disponibilidad del fármaco se obtiene con una dosis de 50 mg/kg cada 12 horas.¹⁷ Se demuestra, además, que el protocolo en días alternos produce mayor número de recaídas que la pauta diaria,^{3,18} aunque existen referencias con resultados discordantes.¹⁹ También queda reflejado que la duración de al menos 4 semanas ofrece mejores resultados^{20,21,22} que las pautas inferiores a 21 días.⁸

La eficacia del tratamiento inicial es excelente, donde un 96-100% de los casos tratados experimentan una mejoría clínica evidente.^{8,14,23-26} El principal problema reside en que el uso de antimoniales en monoterapia ofrecen una eficacia limitada a largo plazo, ya que el 70-100% de los perros tratados recaen entre los 6 y 12 meses posteriores al tratamiento.^{8,20-22,25}

A pesar de la curación clínica obtenida en la mayor parte de los animales tratados, la eliminación del parásito no se produce tras la administración del fármaco; tras 6 meses del tratamiento leishmanicida, se encuentra carga parasitaria en médula ósea y ganglio en el 60-100% de los animales tratados.^{20,25,26}

En torno al 80% de los antimoniales se excreta por orina 9 horas tras su administración, con lo que la toxicidad por acumulación de estos compuestos es reducida, a no ser que a consecuencia de la enfermedad la tasa de filtración glomerular esté comprometida.¹⁰ Se ha demostrado que su administración conduce a daño tubular severo en animales sanos.²⁷ A pesar de ello, el fármaco es bien tolerado en la mayoría de los animales y su potencial nefrotóxico, incluso en perros con enfermedad renal preexistente es limitado.^{11,28} Otras complicaciones descritas son efectos digestivos leves, letargia (inferior al 20% de casos) o reacciones en el sitio de inyección, con una incidencia descrita hasta del 53%.⁸

Uno de los aspectos que más preocupan con el uso de leishmanicidas es la potencial aparición de resistencias, que a pesar de haber sido referidas en

algunos trabajos,^{16,29} no se ha demostrado *in vitro*³⁰ y se considera que no hay datos suficientes que reflejen este concepto como una realidad vigente¹⁰.

3. Uso combinado de antimoniales y alopurinol

Debido a la elevada tasa de recaídas ya mencionadas en el uso de antimoniales para el tratamiento de la leishmaniosis canina, se postularon medidas como la combinación de estos compuestos y alopurinol, que ya había demostrado su efecto leishmanioestático en monoterapia.^{23,24}

El resultado fue la mejoría clínica inicial en prácticamente la totalidad de los animales tratados, y una disminución en el número de recaídas (4-11% en seguimientos superiores a 10 meses).^{3,8,24} Un estudio demostró que las recaídas se produjeron entre 16 y 65 meses tras la terapia combinada, frente al grupo de control tratado con antimoniales que recayó durante el primer año.⁷ Otro trabajo con el mayor periodo de estudio publicado (entre 2 y 9 años) concluyó que únicamente 3 de 23 perros tratados con esta combinación recayeron.¹¹

Esta estrategia es bien tolerada, con la misma incidencia de efectos secundarios descritos para las monoterapias.⁸ Además, la combinación reduce la necesidad del uso repetido de antimoniales, lo que aumenta la seguridad y disminuye el coste.³

Al igual que con el resto de alternativas, la eliminación completa del parásito es prácticamente imposible, aunque está descrita.¹⁴ A pesar de la curación clínica, en todos los animales se detecta ADN de leishmania tras el tratamiento, aunque la carga parasitaria es muy reducida.³¹ Ha sido demostrado que gracias al tratamiento la capacidad infectiva de los vectores disminuye notablemente, con lo que la terapia proporciona una herramienta efectiva de control de la enfermedad, disminuyendo el riesgo epidemiológico hacia perros sanos o seres humanos.^{32,33}

Gracias a estas referencias, queda demostrado que el uso combinado de alopurinol y antimoniales es eficaz a corto y largo plazo, y es considerado por numerosos autores como el mejor tratamiento frente a la leishmaniosis canina.^{3,8-10,14} La dosis que nosotros recomendamos es:

Antimoniato de Meglumina 50 mg/kg/12h
subcutáneo durante 30-45 días

Alopurinol 10-20 mg/kg/12h vía oral durante
1-2 años como mínimo

4. Miltefosina

La miltefosina (Milteforan®, Virbac) es un compuesto alquil-fosfolípido inicialmente formulado como antineoplásico oral, que ha demostrado ser efectivo en leishmaniosis visceral humana.³⁴ A su efecto leishmanicida se le suma una función inmu-

nomoduladora, ya que ha demostrado potenciar la respuesta inmune celular (linfocitos T, macrófagos) y producir moléculas microbicidas.³⁴

El primer estudio relevante que comparó la eficacia de la miltefosina frente a la terapia estándar, concluyó que este fármaco tenía un efecto leishmanicida similar a los antimoniales, disminuyendo la carga parasitaria (DNA *Leishmania* mediante PCR) durante el periodo de estudio.³⁵ Además, este trabajo no reportó ningún efecto secundario, con lo que lo convertía en una opción segura en el tratamiento. Otro trabajo, llevado a cabo por el laboratorio que lo comercializa, concluyó que era una opción bien tolerada (11,7% de efectos secundarios leves) y eficaz, si bien era un breve periodo de estudio (56 días) y no valoraban el uso de técnicas útiles para la monitorización de la respuesta como la PCR a tiempo real.³⁶

Numerosos autores se hicieron eco de los avances de la miltefosina en el tratamiento de la leishmaniosis canina y nuevas publicaciones aparecieron, pero esta vez con resultados contradictorios. Se reportaron recaídas clínicas (14-28% de los perros tratados en los primeros seis meses) y efectos secundarios digestivos y mielosupresores en casos aislados.³⁴ Además, nuevos análisis mediante PCR en médula y ganglio demostraron que no se pudo eliminar completamente la carga parasitaria en ningún animal tratado y que seis meses después del tratamiento se producía un aumento significativo del ADN parasitario en las muestras analizadas,³⁷⁻³⁹ aunque era de carácter transitorio acorde a una publicación.⁴⁰

Una de las explicaciones posibles de esta disparidad es que el *target* de ADN utilizado en las técnicas de PCR de los últimos estudios se ha considerado más sensible que en las primeras referencias.⁴¹

Es conocido que la modificación del estado inmunitario, como la ejercida por la miltefosina, es una estrategia útil para mejorar los efectos terapéuticos de los fármacos antiparasitarios y para disminuir posibles resistencias, atendiendo a referencias en medicina humana.⁴² Sin embargo, autores recomiendan su uso cauteloso y su monitorización estricta, ya que su larga vida media puede ser un factor predisponente para selección de formas resistentes,^{34,39} habiéndose propuesto un posible marcador genético para la resistencia a la miltefosina.⁴³

La combinación de miltefosina y alopurinol está propuesta como segunda línea de tratamiento frente a la leishmaniosis canina. La dosis recomendada es 2 mg/kg al día durante 28 días consecutivos.¹⁰ En nuestra experiencia, la miltefosina no tiene un buen efecto leishmanicida, sobre todo comparado con la terapia con antimoniales.

5. Anfotericina B

Es un antibiótico macrólido capaz de unirse al ergosterol de la membrana celular, lo que le convierte en un potente fungicida y antiprotozoario. Se han

estudiado varios protocolos, valorando el uso tanto de la formulación estándar^{44,45} como liposomal⁴⁶.

Los estudios con anfotericina B estándar mostraron una alta tasa de respuesta (95% de los casos), con una tasa de recaídas aceptable (10-19% de casos tras 8-12 meses) y en torno al 80% de los casos se mantuvieron negativos mediante cultivo o PCR del parásito un año tras el tratamiento.^{44,45} La formulación liposomal consiguió respuestas completas y parciales con protocolos de dosis altas y bajas, respectivamente; sin embargo, la tasa de recaídas se elevó hasta 92% de los perros tratados los primeros ocho meses.⁴⁶

Los principales inconvenientes de esta modalidad residen en sus efectos secundarios nefrotóxicos o digestivos.⁸

La dosis recomendada es 0,5-0,8 mg/kg intravenoso dos veces por semana durante dos meses (terapia estándar) o 3 mg/kg intravenosos durante cinco días consecutivos (formulación liposomal).¹⁰

La OMS y otros organismos de salud pública internacionales defienden la restricción del uso de anfotericina B en perros, ya que forma parte de la primera línea de tratamiento frente a la leishmaniosis humana, con el fin de disminuir el riesgo de desarrollo de quimiorresistencias.

6. Aminosidina

La aminosidina es un antibiótico aminoglucósido que alcanza elevadas concentraciones intracelulares e inhibe la síntesis de proteínas al unirse al ARN y la subunidad ribosomal 30S.

Se observó que dosis bajas (3,5 mg/kg dos veces al día) obtenían respuesta completa en 33-54% de los casos,²⁰ mientras que con dosis altas (5 mg/kg dos veces al día) la tasa ascendía al 86-100%.^{47,48} Las recaídas son frecuentes (73-80% pocos meses después del tratamiento).⁴⁹ Dosis superiores no se asocian a mayor eficacia y elevan el riesgo de efectos adversos. La curación completa se consiguió en el 19% de los perros tratados con dosis muy altas (40-80 mg/kg diario).⁴⁹ Un trabajo publicado recientemente propone el uso de aminosidina a 15 mg/kg diario durante 21 días, que si bien fue bien tolerado, las respuestas clínicas fueron parciales y la eliminación del parásito a los tres meses fue inferior al 17%.⁵⁰

La principal limitación de esta opción son los efectos secundarios, dependientes de la dosis establecida. Así, dosis de 5 mg/kg cada 12 horas produjeron 5-8% de efectos secundarios (nefrotoxicidad y sordera bilateral reversible), mientras que dosis altas se asocian a 25-50% de efectos adversos y con dosis muy altas obtuvieron 50% de muertes por el tratamiento.⁴⁹

7. Otras opciones

El uso de diferentes modalidades terapéuticas para el tratamiento de la leishmaniosis canina ha sido estudiado y reportado en numerosas publicaciones

de los últimos 20 años. Aunque los resultados obtenidos muestran una limitada eficacia en algunos casos, otras opciones representan una alternativa prometedora para el control de esta enfermedad en el futuro.

El ketoconazol se valoró a dosis de 7 mg/kg diarios durante 7-13 semanas. Si bien la respuesta clínica total o parcial fue aceptable (71%) no hay datos del seguimiento.⁵¹

El uso de pentamidina obtuvo respuesta durante los 6 meses posteriores al tratamiento, pero no hay referencias de la eficacia a largo plazo y los efectos secundarios asociados eran considerables (taquicardia, vómitos, hipotensión).⁵²

Un estudio propuso la combinación de metronidazol con espiramicina (25 mg/kg y 150.000 UI/kg al día durante 13 semanas); el 57% de los casos experimentaron respuesta, aunque ninguno eliminó el parásito completamente mediante PCR. Recayeron el 17% los primeros 4 meses, y se mencionaron efectos secundarios leves.⁵³

La enrofloxacin (20 mg/kg diarios) ha sido estudiada sola o en combinación con metronidazol (10 mg/kg diarios), con una tasa de respuesta de 50% y 70%, respectivamente, pero la mitad de los perros recayeron en los primeros tres meses tras el tratamiento. No se reportaron efectos secundarios.⁵⁴

El marbofloxacin es otra fluoroquinolona propuesta para el tratamiento de la leishmaniosis canina. Un estudio que evaluó diferentes protocolos concluyó que la dosis más eficaz era 2 mg/kg diarios durante un mes; en este trabajo se observó mejoría clínica en la mayoría de los casos, con recaídas a los 9 meses en el 12% de los perros,⁵⁵ sin embargo, contaba con limitaciones importantes, ya que no realizaron análisis parasitológicos en los animales que no se mostraban asintomáticos, con lo que el número de pacientes con recaídas pudieron ser subestimados. Otra publicación mencionó 70% de respuesta con 30% de animales clínicamente curados los tres primeros meses y recaídas de 52% a los 6 meses.⁵⁶

En un trabajo publicado recientemente se utiliza por primera vez el difloxacin con buenos resultados a largo plazo: 3 de 13 perros tratados se mostraron negativos mediante técnicas parasitológicas y moleculares dos años después del tratamiento.³⁹

Por último, se ha reportado el uso beneficioso de la domperidona como inmunomodulador en la terapia de leishmaniosis canina, ya que ha demostrado potenciar la respuesta inmune celular y disminuir el número de anticuerpos.⁵⁷ Esta terapia y su inclusión en los protocolos habituales de tratamiento de la leishmaniosis canina requieren futuros estudios que ayuden a establecer una politerapia adecuada, eficaz y segura.

Protocolos de tratamiento

Diversos grupos de trabajo se han centrado en el estadiaje clínico de los perros con leishmaniosis, es-

tableciendo protocolos terapéuticos para cada fase de la enfermedad y aproximando el pronóstico de cada una de ellas. Las clasificaciones más extendidas son la propuesta por el grupo *LeishVet* (Tabla 1) y por el *Canine Leishmania Working Group, CLWG* (Tabla 2).

1. Animales expuestos

Pertenece al estadio A (sistema CLWG). Se consideran animales que viven en zonas endémicas (o que han vivido durante la época de transmisión), que tienen serología positiva (título bajo) y son negativas a técnicas parasitológicas y moleculares (citología, PCR). Se recomienda repetir la serología en 2-4 meses, y realizar técnicas complementarias si existieran signos clínicos compatibles. No requieren tratamiento.

2. Animales infectados clínicamente sanos

Pertenece al estadio B (CLWG) o estadio I (*LeishVet*). Tienen títulos de anticuerpos bajos y el parásito puede ser localizado mediante PCR o citología (chancro de inoculación, ganglio, médula ósea, etc). La decisión de tratar o no a los pacientes de este grupo es controvertida. Se ha demostrado que en algunas ocasiones los animales infectados pueden eliminar el parásito sin tratamiento.⁵⁸ Algunos autores recomiendan repetir serología 2 ó 3 meses después, y tratar si aparece seroconversión.⁵⁹ Si el animal presenta títulos altos, es probable que exista una infección activa y por tanto debe someterse al tratamiento.¹⁰ La terapia recomendada es con anti-moniato de meglumina y alopurinol.

3. Animales levemente enfermos

Son pacientes que suelen mostrar signos clínicos de la enfermedad y/o alteraciones laboratoriales como anemia no regenerativa leve, hipoalbuminemia e hipergammaglobulinemia. No debe haber indicios de nefropatía. Pertenece al estadio C (CLWG) o estadio II (*LeishVet*). El tratamiento es claramente recomendado, y también se incluye los antimoniales y el alopurinol como primera línea de actuación.^{10,59}

4. Animales con glomerulonefritis (no azotemia o azotemia leve)

Los perros que padecen leishmaniosis pueden desarrollar una enfermedad renal por depósito de inmunocomplejos, principalmente en los glomérulos, aunque pueden extenderse al compartimento túbulo-intersticial.^{60,61} Esta situación induce activación del complemento, reclutamiento de macrófagos, liberación de citoquinas y estímulos quimiotácticos sobre otras células del sistema inmune, produciendo la inflamación de la unidad glomerular y promoviendo la lesión renal.⁶²

Tabla 1

ESTADÍO CLÍNICO	SEROLOGÍA	SIGNOS CLÍNICOS	HALLAZGOS LABORATORIO
Estadio I <i>Enfermedad leve</i>	Nivel anticuerpos bajos	Ninguno Linfadenopatía Dermatitis papular	No alteraciones
Estadio II <i>Enfermedad moderada</i>	Nivel anticuerpos bajos-altos	Estadio I más: Onicogriposis Dermatitis exfoliativa Ulceraciones Epistaxis	Anemia leve Hipergammaglobulinemia Hipoalbuminemia Creatinina <1,4 mg/dl Sub a) UPC <0,5 Sub b) UPC 0,5-1
Estadio III <i>Enfermedad grave</i>	Nivel anticuerpos altos	Estadio I, II más: Vasculitis Poliartritis Uveítis Glomerulonefritis	Estadio II más: UPC >1 Creatinina >1,4 mg/dl
Estadio IV <i>Enfermedad muy grave</i>	Nivel anticuerpos altos	Estadio I, II, III más: Tromboembolismo pulmonar Síndrome nefrótico Enfermedad renal terminal	Estadio II más: Creatinina >2 mg/dl UPC >5

Modificado de: Solano-Gallego, et al: Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. Vet Parasitol 2009; 165:1-8.

Tabla 2

ESTADÍO CLÍNICO	SEROLOGÍA	SIGNOS CLÍNICOS	HALLAZGOS LABORATORIO
Estadio A <i>Espuestos</i>	Nivel anticuerpos bajos	Ninguno	No alteraciones
Estadio B <i>Infectados</i>	Nivel anticuerpos bajos-altos	Ninguno	PCR/Citología positivos No alteraciones
Estadio C <i>Enfermos</i>	Nivel anticuerpos altos	Pérdida de peso Signos cutáneos Signos oculares Linfadenomegalia Epistaxis Fiebre Otros	Anemia o citopenias Hipergammaglobulinemia Hipoalbuminemia UPC <0,5 Creatinina <1,4 mg/dl
Estadio D <i>Enfermos graves</i>	Nivel anticuerpos altos	Estadio C, más: Uveítis Poliartritis Glomerulonefritis	Estadio D, más: Creatinina <1,4 mg/dl UPC >0,5
Estadio E <i>Ea: Sin respuesta</i> <i>Eb: Recaídas tempranas</i>			

Modificado de: Oliva G, et al: Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. J Am Vet Med Assoc 2010; 236:1192-1198.

Estos animales también pueden mostrar indicios de depósitos de inmunocomplejos en otros órganos, manifestando signos como uveítis, vasculitis o poliartritis.

La proteinuria es uno de los principales marcadores de glomerulonefritis, aunque no es exclusivo de lesión glomerular o de patología renal.⁶³ La severidad de la enfermedad glomerular se ve reflejada en la magnitud de la proteinuria, que se evalúa con

mediciones seriadas del ratio proteína: creatinina en orina (UPC).⁶⁴ Según la *International Renal Interest Society (IRIS)*, valores de UPC superiores a 0,5 confirman proteinuria, inferiores a 0,2 la descartan, e intermedios se consideran dudosos o *borderline*.⁶⁵

En el caso de la leishmaniasis, cuando un paciente presenta signos clínicos de la enfermedad junto con proteinuria, se debe asumir la existencia de glomerulonefritis por inmunocomplejos; la serología en

estas situaciones tiene una sensibilidad del 98%.⁶⁶

La monitorización del tratamiento antiparasitario y de la enfermedad glomerular va orientada a la normalización de los valores de UPC, ya que se ha demostrado que la proteinuria perpetúa el fallo renal, empeora la funcionalidad renal y aumenta el riesgo de crisis urémicas y muerte.⁶⁷

Los pacientes de este grupo se clasifican dentro del estadio III (*LeishVet*) o estadio D (*CLWG*). El alopurinol en monoterapia ha demostrado ser eficaz al disminuir la proteinuria sin incrementar la azotemia y evitar la progresión de la enfermedad renal.¹² Un estudio retrospectivo reciente demostró que la combinación de antimoniales y alopurinol también reducía significativamente la magnitud de la proteinuria, sólo 4-8 semanas tras el tratamiento.⁶⁸

La terapia específica frente a la proteinuria es indicada cuando el UPC es superior a 2,⁶⁵ aunque hay autores que recomiendan iniciar el tratamiento antiproteinúrico en pacientes con serología positiva y valores de UPC por encima de 0,5.⁶⁶ La primera línea de tratamiento es la modificación de proteínas en la dieta y los fármacos inhibidores de enzima convertidora de angiotensina (benacepril 0,5 mg/kg diarios, enalapril 0,5 mg/kg diarios).^{64,65} En algunos casos, estos tratamientos pueden empeorar la función renal, principalmente en el inicio del tratamiento, obligando a reducir la dosis o suspender el fármaco.⁶⁹

La hipertensión sistémica es un hallazgo frecuente en glomerulopatías; en perros con leishmaniosis y proteinuria, se estima que el 10% y 60% de los pacientes no azotémicos y azotémicos, respectivamente, tienen hipertensión arterial.⁷⁰ Además de los tratamientos antiproteinúricos, añadir fármacos como los bloqueantes de canales de calcio (amlodipino 0,1-0,7 mg/kg diarios) o β -bloqueantes (atenolol 0,25-0,1 mg/kg cada 12-24 horas) puede ser necesario para mantener la presión arterial sistólica por debajo de 160 mm Hg.^{64,65,69}

La terapia antitrombótica es necesaria en algunos pacientes proteinúricos, ya que niveles reducidos de antitrombina III o albúmina incrementan el riesgo de padecer estados de hipercoagulabilidad y sufrir episodios tromboembólicos.⁶³ Los antiagregantes plaquetarios (aspirina) son la principal herramienta para evitarlos; la dosis clásicamente recomendada de 0,5 mg/kg al día podría ser insuficiente según nuevos estudios, que recomiendan dosis de 1-5 mg/kg diarios.⁶⁴

Otras recomendaciones terapéuticas incluyen modificaciones dietéticas, como la restricción de proteína, niveles reducidos de fósforo y sodio y un ratio adecuado de ácidos grasos esenciales $\omega 6:\omega 3$ de 5:1.^{64,65}

5. Animales con glomerulonefritis (azotémicos)

Se incluyen animales en estadio IV (*LeishVet*) y estadio D (*CLWG*). La existencia de enfermedad renal

ha sido un factor limitante para el tratamiento de la leishmaniosis canina, y es objeto de debate en algunas situaciones. La decisión de instaurar tratamiento antiparasitario en pacientes con glomerulonefritis por leishmania se basa en que la reducción de inmunocomplejos circulantes podría ser beneficiosa para mantener la integridad funcional de la nefrona.⁶⁹

Muchos de los tratamientos leishmanicidas han demostrado tener potencial nefrotóxico, como los antimoniales, anfotericina B o aminosidina, y por ello se recomienda su uso cauteloso en estas situaciones.⁸

Algunos autores recomiendan el uso de alopurinol en monoterapia como agente antiparasitario, añadido al tratamiento de la enfermedad renal descrito en el apartado anterior.¹⁰ Sin embargo, no hay evidencias concretas de que el uso de antimoniales empeore la función renal en animales azotémicos. De hecho, hay estudios que concluyen que en grados de azotemia leve a moderada (*IRIS II-III*) el uso de antimoniales y alopurinol mejoraron los parámetros renales.^{28,71} Por ello, grupos de trabajo plantean el uso de antimoniales en estos animales con un estricto control de la funcionalidad renal.⁵⁹

Animales refractarios

Son considerados dentro de esta clasificación aquellos pacientes que no responden al tratamiento recomendado de antimoniales y alopurinol, o aquellos que recaen rápidamente tras la suspensión del mismo (Estadio Ea, Eb, *CLWG*). En estos pacientes se recomienda el uso de opciones como miltefosina y alopurinol, aminosidina, quinolonas, o anfotericina.⁵⁹

Monitorización y pronóstico

La monitorización de los perros que padecen leishmaniosis consta de exploración física general, hemograma, análisis bioquímico (incluyendo electroforesis de proteínas séricas) y urianálisis completo (con el UPC).

La serología cuantitativa es una herramienta útil para la monitorización, aunque tiene sus limitaciones. Algunos trabajos apuntan que el título de anticuerpos no desciende los primeros meses de tratamiento,^{24,56} mientras que otros asocian una reducción progresiva y lenta en el título de anticuerpos con una respuesta clínica favorable.^{11,72} Además, otros estudios demuestran que esta técnica no es una herramienta adecuada para la monitorización de respuesta a corto plazo.^{53,73} Sin embargo, aumento en los títulos en un animal en tratamiento indica fallo terapéutico o recaída, si el tratamiento estaba interrumpido.⁷⁴ Tampoco se puede obviar que en las zonas endémicas un aumento en la cantidad de anticuerpos puede deberse tanto a una nueva reinfección como a una verdadera recaída.⁷⁵

La PCR cuantitativa a tiempo real parece ser un método más sensible para valorar la respuesta al tratamiento, así como para detectar recaídas.^{40,74}

La disminución de proteínas de fase aguda, más concretamente la proteína C reactiva, tras el tratamiento antiparasitario representa un biomarcador preciso para evaluar la respuesta terapéutica.⁷⁶

Marcadores de la respuesta inmunológica han sido propuestos para monitorizar la respuesta al tratamiento. El primer estudio al respecto concluyó que el ratio CD4+/CD8+ de los linfocitos circulantes no era un parámetro fiable para el seguimiento tras la terapia leishmanicida.⁷⁷ Sin embargo, la actividad de interferón omega y la interleukina 4 han demostrado ser buenos biomarcadores de recaída tras el tratamiento y de enfermedad activa, respectivamente.⁴⁰

La frecuencia con la que se recomiendan los seguimientos depende directamente de la gravedad de la enfermedad en cada paciente. Así, estadios iniciales (animales infectados clínicamente sanos)

requieren monitorización cada 2-4 meses el primer año, y cada 6-12 meses el resto de su vida,⁷⁴ con un pronóstico muy favorable.^{10,59}

Los animales levemente enfermos deben reevaluarse 4-6 semanas tras el tratamiento, y después continuarán con el seguimiento anteriormente mencionado. El pronóstico se considera de bueno a reservado,⁷⁴ y depende principalmente de la magnitud de la proteinuria, ya que animales que no consiguen reducir el ratio UPC se relacionan con evolución más desfavorable.⁶⁹

La existencia de enfermedad renal empeora mucho el pronóstico.^{12,22,71} Sin embargo, animales con creatinina próxima a 2 mg/dl muestran un pronóstico similar a pacientes no azotémicos⁷¹ y algunos perros con enfermedad renal avanzada (*IRIS III-IV*) pueden tener una supervivencia prolongada.⁷⁷ En estos casos se recomienda la monitorización frecuente, con seguimientos cada 10 días tras el inicio del tratamiento durante el primer mes, y cada 4-8 semanas los meses posteriores.⁵⁹

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Liste F, Gascon M: Allopurinol in the treatment of canine leishmaniasis. *Vet Rec* 1995;137:23-24.
- ² Lester SJ, Kenyon JE: Use of allopurinol to treat visceral leishmaniasis in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1996;209:615-617.
- ³ Denerolle P, Bourdoiseau G: Combination allopurinol and antimony treatment versus antimony alone and allopurinol alone in the treatment of canine leishmaniasis (96 cases). *J Vet Intern Med* 1999;13:413-415.
- ⁴ Koutinas AF, Saridomichelakis MN, Mylonakis ME, et al: A randomised, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 2001;98:247-261.
- ⁵ Cavaliero T, Arnold P, Mathis A, et al: Clinical, serologic and parasitologic follow-up after long-term allopurinol therapy of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *J Vet Intern Med* 1999;13:330-334.
- ⁶ Vercammen F, Berkvens D, Le Ray D, et al: First evaluation of the use of allopurinol for the treatment of canine Leishmaniasis. *Vlaams Diergeneeskund Tijdschr* 1995;64:208-214.
- ⁷ Paradies P, Sasanelli M, Amato MA, et al: Monitoring the reverse to normal of clinic-pathological findings and the disease free interval time using for different treatment protocols for canine leishmaniasis in an endemic area. *Res Vet Sci* 2012;93:843-847.
- ⁸ Noli C, Auxilia ST: Treatment of canine old world visceral leishmaniasis: a systematic review. *Vet Dermatol* 2005;16:213-232.
- ⁹ Oliva G, Gradoni L, Cortese L, et al: Comparative efficacy of meglumine antimoniate and aminosidine sulphate, alone or in combination, in canine leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol* 1998;92:165-171.
- ¹⁰ Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, et al: Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 2009;165:1-18.
- ¹¹ Torres M, Bardagí M, Roura X, et al: Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniasis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Vet J* 2011;188:346-351.
- ¹² Plevraki K, Koutinas AF, Kaldrymidou H, et al. Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *J Vet Intern Med* 2006; 20:228-233.
- ¹³ Ling GV, Ruby AL, Johnson DL. Xanthine-containing urinary calculi in dogs given allopurinol. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 198:1935-1940.
- ¹⁴ Baneth G, Shaw SE: Chemotherapy of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 2002;106:315-324.
- ¹⁵ Ferrer L: Leishmaniasis. In: Kirk RW, ed *Current Veterinary Therapy XI*. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1992: 266-270.
- ¹⁶ Gramiccia M, Gradoni L, Orsini S. Decreased sensitivity to meglumine antimoniate (glucantime) of *Leishmania infantum* isolated from dogs after several courses of drug treatment. *Ann Trop Med Parasitol* 1992;86:613-620.
- ¹⁷ Valladares JE, Alberola J, Esteban M, et al: Disposition of antimony after the administration of N-methylglucamine antimoniate to dogs. *Vet Rec* 1996;138:181-183.
- ¹⁸ Neogy AB, Vouldoukis I, da Costa JM, et al: Exploitation of parasite-derived antigen in therapeutic success against canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol* 1994;54:367-373.
- ¹⁹ Vouldoukis I, Drapier JC, Nuessler K, et al: Canine visceral leishmaniasis: successful chemotherapy induces macrophage antileishmanial activity via the L-arginine nitric oxide pathway. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1996;40:253-256.

- ²⁰Oliva G, Roura X, Crotti A, et al: Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2010;236:1192-1198.
- ²¹Slappendel RJ, Teske E: The effect of intravenous or subcutaneous administration of meglumine antimoniate (Glucantime) in dogs with leishmaniasis. A randomized clinical trial. *Vet Q* 1997;19:10-13.
- ²²Slappendel RJ: Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in the Netherlands. *Veterinary Quarterly* 1988;10:1-16.
- ²³Alvar J, Molina R, San Andrés M, et al: Canine Leishmaniasis: clinical, parasitological and entomological follow-up after chemotherapy. *Ann Trop Med Parasitol* 1994;88:371-378.
- ²⁴Ferrer L, Aisa MJ, Roura X, et al: Serological diagnosis and treatment of canine Leishmaniasis. *Vet Rec* 1995;136:514-516.
- ²⁵Riera C, Valladares JE, Gallego MJ, et al: Serological and parasitological follow-up in dogs experimentally infected with *Leishmania infantum* and treated with meglumine antimoniate. *Vet Parasitol* 1999;84:33-47.
- ²⁶Ikeda-García FA, Souza R, Judice F, et al: Clinical and parasitological evaluation of dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* submitted to a treatment with meglumine antimoniate. *Vet Parasitol* 2007; 143:254-259.
- ²⁷Biancardi P, Brovida C, Valiente M, et al: Administration of miltefosina and meglumine antimoniate in healthy dogs: clinicopathological evaluation of the impact on the kidneys. *Toxic Pathol* 2009; 37:770-775.
- ²⁸Ikeda-García FA, Lopes RS, Ciarlini PC, et al: Evaluation of renal and hepatic functions in dogs naturally infected by visceral leishmaniasis submitted to a treatment with meglumine antimoniate. *Res Vet Sci* 2007; 83:5-8.
- ²⁹Faraut-Gambarelli F, Piarroux R, Deniau M, et al: In vitro and in vivo resistance of *Leishmania infantum* to meglumine antimoniate: a study of 37 strains collected from patients with canine leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:827-830.
- ³⁰Carrío J, Portus M: In vitro susceptibility to pentavalent antimony in *Leishmania infantum* strains is not modified during in vitro or in vivo passages but is modified after host treatment with meglumine antimoniate. *BMC Pharmacol* 2002;2:11.
- ³¹Manna L, Reale S, Vitale F, et al: Real-time PCR assay in *Leishmania*-infected dogs treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Vet J* 2008;177:279-282.
- ³²Miró G, Gálvez R, Fraile C, et al: Infectivity to *Phlebotomus perniciosus* of dogs naturally parasitized with *Leishmania infantum* after different treatments. *Parasites & Vectors* 2011;4:52.
- ³³Ribeiro RR, Moura EP, Pimentel VM, et al: Reduced tissue parasitic load and infectivity to sand flies in dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* following treatment with a liposome formulation of meglumine antimoniate. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:2564-2572.
- ³⁴Manna L, Vitale F, Reale S, et al: Study of efficacy of miltefosine and allopurinol in dogs with leishmaniasis. *Vet Journal* 2009;182:441-445.
- ³⁵Miró G, Oliva G, Cruz I, et al: Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniasis. *Veterinary Dermatology* 2008;20:397-404.
- ³⁶Woerly V, Maynard L, Sanquer A, et al: Clinical efficacy and tolerance of miltefosine in the treatment of canine leishmaniasis. *Parasitol Res* 2009;105:463-469.
- ³⁷Manna L, Gravino AE, Picillo E, et al: *Leishmania* DNA quantification by real-time PCR in naturally infected dogs treated with miltefosine. *Ann NY Acad Sci* 2008;1149:358-360.
- ³⁸Andrade HM, Toledo VPCP, Pinheiro MB, et al: Evaluation of miltefosine for the treatments of dogs naturally infected with *L. infantum* (= *L. chagasi*) in Brazil. *Vet Parasitol* 2011;181:83-90.
- ³⁹Ariti G, Nardoni S, Papini R, et al: Treatment of canine leishmaniasis: long term molecular and serological observations. *Med Weter* 2013; 69:109-111.
- ⁴⁰Manna L, Reale S, Picillo E, et al: Interferon-gamma (IFN- γ), IL4 expression levels and *Leishmania* DNA load as prognostic markers for monitoring response to treatment of leishmaniotic dogs with miltefosine and allopurinol. *Cytokine* 2008;44:288-292.
- ⁴¹Ovalle BC, Porras de Quintana L, Muvdi Arenas S, et al: PCR with kDNA target is a useful diagnostic test and the ITS RNA molecular target is useful when the aim is to identify species. Polymerase chain reaction with two molecular targets in mucosal leishmaniasis' diagnosis: a validation study. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007;102:549-554.
- ⁴²Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH: Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:111-126.
- ⁴³Cojean S, Houzé S, Haouchine D, et al: *Leishmania* resistance to miltefosine associated with genetic marker. *Emerg Infect Dis* 2012; 18:704-706.
- ⁴⁴Lamothe J: Activity of amphotericin B in lipid emulsion in the initial treatment of canine leishmaniasis. *J Small Anim Practice* 2001;42:170-175.
- ⁴⁵Cortadellas O: Initial and long-term efficacy of a lipid emulsion of amphotericin B desoxycholate in the management of canine leishmaniasis. *J Vet Intern Med* 2003;17:808-812.
- ⁴⁶Oliva G, Gradoni L, Ciaramella P, et al: Activity of liposomal amphotericin B (AmBisome) in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1995;36:1013-1019.
- ⁴⁷Poli A, Sozzi S, Guidi G, et al: Comparison of aminosidine (paromycin) and sodium stibogluconate for treatment of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 1997;71:263-271.
- ⁴⁸Persechino A, Oliva G, Ciaramella P, et al: Impiego dell'aminosidina nella terapia della leishmaniosi del cane. *Nota II. Rivista di Zootecnia Veterinaria* 1995;23:3-6.
- ⁴⁹Vexenat JA, Olliaro PL, Fonseca de Castro JA, et al: Clinical recovery and limited cure in canine visceral leishmaniasis treated with aminosidine (paromycin). *Am J Trop Med Hygiene* 1998;58:448-453.
- ⁵⁰Athanasios LV, Saridomichelakis MN, Kontos VI, et al: Treatment of canine leishmaniasis with aminosidine at an optimized dosage regimen: a pilot open clinical trial. *Vet Parasitol* 2013; 192:91-97.
- ⁵¹D' Ambrosio C, Gallo C, Agresti A: Il ketoconazolo nella terapia della leishmaniosi del cane. *Atti SISVET* 1986;40:492-496.
- ⁵²Lasri S, Sahibi H, Natami A, et al: Western Blot analysis of *Leishmania infantum* antigens using sera from pentamidine-treated dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2003;91:13-18.
- ⁵³Pennisi MG, De Majo M, Masucci M, et al: Efficacy of metronidazole-spiramycin combined therapy

- in the treatment of canine leishmaniasis. *Vet Record* 2005;156:346-349.
- ⁵⁴ Biancardi P, Fasanella A, Flogia Manzillo V, et al: The efficacy of enrofloxacin, alone or combined with metronidazole, in the therapy of canine leishmaniasis. *Parasitol Res* 2004;93:486-492.
- ⁵⁵ Rougier S, Vouldoukis I, Fournel S, et al: Efficacy of different treatment regimens of marbofloxacin in canine visceral leishmaniasis: A pilot study. *Vet Parasitol* 2008;153:244-254.
- ⁵⁶ Rougier S, Hasseine L, Delaunay P, et al: One-year clinical and parasitological follow-up of dogs treated with marbofloxacin for canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 2012;186:245-253.
- ⁵⁷ Gómez-Ochoa P, Castillo JA, Gascón M: Use of domperidone in the treatment of canine visceral leishmaniasis: a clinical trial. *Vet Journal* 2009;179:259-263.
- ⁵⁸ Oliva G, Scalone A, Foglia Manzillo V, et al. Incidence and time course of *Leishmania infantum* infections examined by parasitological, serologic and nested-PCR techniques in a cohort of naïve dogs exposed to three consecutive transmission seasons. *J Clin Microbiol* 2006; 44:1318-1322.
- ⁵⁹ Oliva G, Roura X, Crotti A, et al. Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2010; 236:1192-1198.
- ⁶⁰ Manciatì F, Poli A, Bionda A. Analysis of renal immune-deposits in canine leishmaniasis. Preliminary results. *Parassitologia* 1989; 31:213-230.
- ⁶¹ Poli A, Abramo F, Manciatì F, et al. Renal involvement in canine leishmaniasis. A light-microscopic, immunohistochemical and electron-microscopy study. *Nephron* 1991; 57:444-452.
- ⁶² Zatelli A, Borgarelli M, Santilli R, et al. Glomerular lesions in dogs infected with *Leishmania* organisms. *Am J Vet Res* 2003; 64:558-651.
- ⁶³ Littman MP, Daminet S, Grauer GF, et al. Consensus recommendations for the diagnostic investigation of dogs with suspected glomerular disease. *J Vet Intern Med* 2013; 27:S19-S26.
- ⁶⁴ Brown S, Elliot J, Francey T, et al. Consensus recommendations for standard therapy of glomerular disease in dogs. *J Vet Intern Med* 2013; 27:S27-S43.
- ⁶⁵ IRIS. IRIS treatment recommendations for CKD (revised 2013). Disponible en: <http://www.iris-kidney.com/guidelines/recommendations.shtml>
- ⁶⁶ Goldstein RE, Brovida MJ, Fernández-del Palacio MJ, et al: Consensus recommendations for treatment for dogs with serology positive glomerular disease. *J Vet Intern Med* 2013; 27:S60-S66.
- ⁶⁷ Jacob F, Polzin DJ, Osborne CA, et al. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with chronic renal failure. *J Am Vet Med Assoc* 2005; 226:393-400.
- ⁶⁸ Pierantozzi M, Roura X, Paltrinieri S, et al. Variation of proteinuria in dogs with leishmaniasis treated with meglumine antimoniate and allopurinol: a retrospective study. *J Am Anim Hosp Assoc* 2013; 49:1-6.
- ⁶⁹ Castagnaro M, Crotti A, Fondati A, et al. Leishmaniasis canina: Linee guida su diagnosi, stadiazione, terapia, monitoraggio e prevenzione. Parte I: Approccio diagnostico e classificazione del paziente leishmaniotico e gestione del paziente proteinurico. *Veterinaria* 2007; 21:19-32.
- ⁷⁰ Cortadellas O, del Palacio MJ, Bayon A, et al. Systemic hypertension in dogs with leishmaniasis: prevalence and clinical consequences. *J Vet Intern Med* 2006; 20:941-947.
- ⁷¹ Planellas M, Roura X, Lloret A. Presence of renal disease in dogs with patent leishmaniasis. *Parassitologia* 2009; 51:65-68.
- ⁷² Rodríguez A, Solano-Gallego L, Ojeda A, et al. Dynamics of *Leishmania*-specific immunoglobulin isotypes in dogs with clinical leishmaniasis before and after treatment. *J Vet Intern Med* 2006; 20:495-498.
- ⁷³ Solano-Gallego L, Riera C, Roura X, et al: *Leishmania infantum* specific IgG, IgG1 and IgG2 antibody responses in healthy and ill dogs from endemic areas. Evolution in the course of infection and after treatment. *Vet Parasitol* 2001;96:265-276.
- ⁷⁴ Roura X, Fondati A, Lubas G, et al. Prognosis and monitoring leishmaniasis in dogs: a working group report. *Vet J* 2013; 198:43-47.
- ⁷⁵ Baneth G, Aroch I: Canine Leishmaniasis: a diagnostical and clinical challenge. *Vet J* 2008; 175:14-15.
- ⁷⁶ Martínez-Subiela S, Strauss-Ayali D, Cerón JJ, et al. Acute phase protein response in experimental canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 2011; 180:197-202.
- ⁷⁷ Miranda S, Martorell S, Costa M, et al. Characterization of circulating lymphocyte subpopulations in canine leishmaniasis throughout treatment with antimonials and allopurinol. *Vet Parasitol* 2007; 144:251-260.

CONTROL DE LA LEISHMANIOSIS CANINA

Guadalupe Miró

Consulta de Patología Infecciosa y Parasitaria. Hospital Clínico Veterinario.
Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria.
Universidad Complutense de Madrid.

Resumen

En el perro la prevención de la leishmaniosis se puede abordar desde dos aspectos fundamentales bien delimitados: el control del vector, mediante el uso de insecticidas con acción repelente, que eviten la picadura y, por tanto, la transmisión de la infección; y el control del parásito, mediante el tratamiento de los perros enfermos y la vacunación de los perros sanos.

La intervención de un vector artrópodo en el ciclo biológico de *Leishmania infantum* hace complejo su control y es siempre el mayor reto en el manejo de todas las enfermedades vectoriales.

Se ha demostrado la eficacia de diferentes formulaciones tópicas en forma de collares, pipetas o pulverizadores, que llevan en su composición diferentes piretroides sintéticos eficaces frente a diversas especies del género *Phlebotomus*, principal vector de *L. infantum* en el Sur de Europa. Estos insecticidas poseen un elevado margen de tolerancia y seguridad, siendo responsabilidad del veterinario hacer las recomendaciones adecuadas para maximizar el grado de cumplimiento y alcanzar la eficacia repelente deseada.

El control del parásito en el perro, una vez se ha producido la infección, se basa en la quimioterapia o aplicación de leishmanicidas combinados con leishmaniostáticos que consiguen en la mayoría de los casos una curación clínica pero no parasitológica; la inmunoterapia mediante la aplicación de ciertas moléculas que ayuden a mejorar la respuesta inmunitaria de base celular y la inmunoprofilaxis o aplicación de vacunas que potencien una buena

respuesta inmune en los perros sanos evitando, si no la infección, sí la progresión de la enfermedad.

Por tanto, ninguna de las medidas de control anteriormente citadas se puede considerar como una acción aislada, sino que deben formar parte de un programa de prevención integral de la leishmaniosis en los perros que viven en zonas endémicas, tanto sanos, infectados clínicamente sanos y/o enfermos, como para los que viajen a las mismas.

Control del vector

La aplicación en los perros de insecticidas tópicos de probada eficacia sobre los flebotomos es la medida más eficaz para evitar la picadura de estos insectos, ya que proporciona un doble efecto, repelente/insecticida capaz de ahuyentar o matar a estos insectos cuando entran en contacto con un perro previamente tratado^{1,2,3,61,62}.

Se ha demostrado la eficacia de diferentes formulaciones tópicas en forma de collares, pipetas o pulverizadores, que llevan en su composición diferentes piretroides sintéticos eficaces frente a diversas especies del género *Phlebotomus*, principal vector de *L. infantum* en el Sur de Europa (Tabla 1).

A continuación se describen los productos disponibles para evitar la picadura de los flebotomos que se pueden aplicar en el perro:

Collares

Existen dos collares con distintos principios activos que han demostrado su eficacia frente a la picadura de los flebotomos en el perro:

Tabla 1

LISTADO DE PRODUCTOS CON EFICACIA REPELENTE DEMOSTRADA EN PUBLICACIONES CIENTÍFICAS

NOMBRE COMERCIAL	PRINCIPIO ACTIVO	PRESENTACIÓN	REFERENCIAS
E*Scalibor (MSD)	Deltametrina	Collar	Killick-Kendrick et al., 1997 ⁴ Lucientes, 1999 ⁶ David et al., 2001 ⁷ Maroli et al., 2001 ⁸
Seresto (BAYER)	Flumetrina + Imidacloprid	Collar	Otranto et al., 2013 ¹⁰ Brianti et al., 2016 ⁶³
Ex-spot (MSD)	Permetrina	Spot on	Molina et al., 2012 ⁶⁰
*Advantix (BAYER)	Permetrina + Imidacloprid	Spot on	Mencke et al., 2003 ¹³ Miró et al., 2007 ¹⁴ Otranto et al., 2007 ¹⁵
Activyl Plus (MSD)	Permetrina + Indoxacarb	Spot on	Frenais et al., 2014 ¹⁷
*Vectra 3D (CEVA)	Permetrina + Dinotefurán + Piriproxifeno	Spot-on	Liénard et al., 2013 ¹⁶
Frontline Tri-ac (MERIAL)	Permetrina + Fipronil	Spot on	Franc et al., 2015 ¹⁹
Effitix (VIRBAC)	Permetrina + Fipronil	Spot on	Dumont et al., 2015 ¹⁸
Duowin (VIRBAC)	Permetrina + Piriproxifeno	Pulverización	Reithinger et al., 2001 ¹¹ Molina et al., 2006 ²¹

*Productos que tienen, a la fecha de publicación, la indicación registrada en la AEMPS (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios) como repelentes frente a flebotomos.

- Un collar a base de deltametrina que se libera de forma progresiva por el tejido adiposo subcutáneo del perro, alcanzando su máxima eficacia a las 2 semanas de su colocación^{4,5}. El efecto repelente de los collares impregnados con deltametrina puede persistir durante seis-ocho meses^{4,6,7}. Se ha demostrado la eficacia de estos collares frente a diferentes especies de flebotomos de Europa, Asia y Sudamérica. Además, el uso masivo de collares en el perro como medida de control, disminuye significativamente la seroprevalencia de la enfermedad en zonas endémicas, tanto en perros como en niños, con tasas de protección entre el 50 y el 86%^{8,9}.
- Otro collar a base de una combinación de flumetrina (4,5%) e imidacloprid (10%), ha demostrado controlar la infección por *L. infantum* en cachorros menores de seis meses expuestos en un área hiper-endémica en el sur de Italia¹⁰; con una tasa de incidencia en el grupo control superior al 35% al cabo de un año de estudio.
- Recientemente un estudio comparativo de estos dos collares (deltametrina y flumetrina) ha demostrado una buena eficacia de ambos en la prevención de la infección por *Leishmania* a lo largo de un ciclo anual completo⁶³.

Pipetas

Las formulaciones tópicas, aplicadas en spot-on mediante pipetas, pueden proporcionar adecuados niveles de repelencia, aunque de menor duración, si se comparan con los collares¹¹. En cambio, estas

formulaciones requieren sólo unas 24-48 horas para que el insecticida se distribuya homogéneamente por el estrato córneo de la piel del perro y se puedan considerar eficaces¹².

Existen varias presentaciones que han demostrado esta eficacia:

- La combinación de permetrín al 50%, con imidacloprid al 10%, insecticida nicotinoide que potencia las propiedades del piretroide y ejerce una acción sinergizante, prolongándose su efecto durante 3-4 semanas^{13,14}. Así mismo, Otranto et al.¹⁵, demostraron que la aplicación masiva de estas mismas pipetas entre la población canina disminuye la incidencia de la infección a lo largo de un periodo de dos años.
- Otra combinación a base de dinotefurán (4,95%), permetrina (36,08%) y piriproxyfeno (0,44%) ha demostrado una eficacia del 96% y 88% a los 14-21 días, respectivamente¹⁶.
- La combinación de permetrina con indoxacarb presenta una eficacia repelente de 2 semanas frente a *Phlebotomus perniciosus*¹⁷.
- Recientemente, se ha demostrado que dos combinaciones diferentes de permetrina con fipronil producen un efecto repelente del 80%¹⁸ y 87%¹⁹, respectivamente.

Pulverizadores

Por último, cabe resaltar que la aplicación de liciones insecticidas en pulverización a base de permetrina al 65% o en combinación con piriproxifeno, proporcionan un buen efecto repelente e insectici-

da ^{11,20,21}. Su eficacia es casi instantánea desde el momento de la aplicación, pero su aplicación manual hace imposible una correcta distribución del principio activo, quedando áreas corporales desprotegidas. Así mismo, su efecto residual es reducido, siendo necesarias varias aplicaciones con un intervalo no superior a una semana para conseguir un cierto grado de protección en los perros tratados ¹.

Respecto a la tolerancia en el perro, no se han descrito reacciones adversas dignas de mención de ninguno de los principios activos mencionados anteriormente, siguiendo las recomendaciones apropiadas de uso, por lo que se considera que poseen un elevado margen de seguridad. Y ha de ser el veterinario el que deba hacer las recomendaciones adecuadas para maximizar el grado de cumplimiento y alcanzar la eficacia repelente/insecticida deseada.

Control del parásito

Se han hecho muchos esfuerzos y se han conseguido importantes avances científicos en el intento de controlar el parásito una vez se ha producido la infección en el perro mediante:

- **Quimioterapia:** la aplicación de drogas con eficacia leishmanicida o leishmanioestática consiguen reducir la carga parasitaria en los perros enfermos que, en muchos casos, alcanzan un óptimo estado de salud durante largos periodos de tiempo. No obstante, hasta el momento no existe ningún tratamiento disponible que consiga una cura parasitológica del 100% (ver capítulo de Tratamiento de la leishmaniosis canina).
- **Inmunoterapia:** si consideramos que la leishmaniosis canina es una enfermedad parasitaria inmunomediada, el objetivo principal es conseguir ayudar al sistema inmune a controlar la infección. Es por ello que hoy día la inmunoterapia está en pleno auge y se están aunando esfuerzos para probar la eficacia de nuevas moléculas, o no tan nuevas para esta aplicación.
- **Inmunoprofilaxis:** el desarrollo de vacunas tiene como principal objetivo potenciar una respuesta inmune adecuada que evite la progresión de la enfermedad. Hoy por hoy, ésta sigue siendo la piedra angular para el control de la leishmaniosis, tanto en el perro como en el hombre.

Quimioterapia

El uso combinado de los leishmanicidas (antimoniales pentavalentes, miltefosina) con el alopurinol son el tratamiento considerado de elección para la leishmaniosis canina en la actualidad ^{12,22}.

Para realizar un tratamiento adecuado es preciso evaluar clínicamente al paciente y establecer una clasificación clínica en función de los resultados del inmunodiagnóstico, la gravedad de los signos clí-

nicos y las alteraciones clínico-patológicas que nos permitan decidir el tipo de intervención a realizar ^{23,24}.

Sin embargo, el control del parásito no se establece de una forma completa, ya que todavía no se han desarrollado drogas que produzcan una curación parasitológica completa (ver capítulo de Tratamiento de la leishmaniosis canina).

Poder infectante de los perros tratados

Un hecho siempre cuestionable es si los fármacos empleados en el tratamiento son capaces de "inhibir", al menos durante un tiempo, la capacidad infectante de los perros enfermos.

La única forma de demostrarlo es mediante la técnica de xenodiagnóstico, utilizada en investigación en centros especializados, que consiste en exponer al perro tratado en contacto con hembras de flebotomos durante un tiempo establecido, con el fin de demostrar la presencia o ausencia de la infección en los flebotomos alimentados ²⁵. La extrema dificultad del proceso hace que sean muy escasos los estudios realizados en las últimas décadas. Lo más relevante es que todos demuestran que, tras el tratamiento (antimoniales solos, en combinación con alopurinol o formas liposomadas), el poder infectante de los perros se reduce o anula durante un periodo no inferior a 4 meses ^{26,27,28,29,30,31,32,64}.

No obstante, son necesarios estudios con las nuevas moléculas desarrolladas (ej. miltefosina) para evaluar si tienen la misma capacidad de reducción del poder infectante de los perros tratados que los antimoniales o el alopurinol.

Inmunoterapia

La tendencia actual y a medio plazo es asociar fármacos inmunomoduladores a los tratamientos específicos convencionales. Los inmunomoduladores estudiados hasta el momento son la domperidona ³³, las autovacunas ³⁴, así como algunas citoquinas, los receptores "Toll-like" y los sistemas de transportes de fármacos ²⁴.

La mayoría de estos principios activos utilizados en la inmunoterapia de la leishmaniosis canina, son compatibles con otros tratamientos leishmanicidas o leishmanioestáticos y presentan una buena tolerancia en el perro (ver capítulo de Tratamiento de la Leishmaniosis canina).

Inmunoprofilaxis

La aplicación de vacunas protectoras es sin duda una herramienta esencial para la prevención de cualquier enfermedad y sigue siendo la piedra angular para el control de la leishmaniosis, tanto en el perro como en el hombre.

Hay numerosos grupos de investigación que han hipotecado muchos años involucrados en el desarrollo y valoración de candidatos vacunales capaces

de producir una inmunidad celular frente a la infección por *Leishmania*, así como los mejores adyuvantes para dichas vacunas³⁵.

En perros se han evaluado distintos tipos de vacunas: inactivadas, con antígenos purificados, antígenos recombinantes, vacunas de ADN y vacunas a base de antígenos recombinantes o sus productos de excreción-secreción que son las que han demostrado mejores resultados de eficacia³⁵.

Así, en el año 2004 se comercializó en Brasil la primera vacuna contra la leishmaniosis canina (Leishmune®), compuesta por una fracción enriquecida de la glicoproteína GP63 de *L. donovani*, denominada FML (ligando fructosa-manosa). Fue probada en perros en ensayos de campo de 48 meses de duración, demostrando una eficacia global de protección del 80%^{36,37,65}.

En perros enfermos esta vacuna ha demostrado su capacidad para impedir la transmisión de la infección al vector^{38,39,40} y su utilidad en inmunoterapia⁴¹. Así mismo, Palatnik-de-Sousa et al.⁴² demostraron una disminución de la incidencia tanto en perros como en personas en una zona endémica de Brasil.

Las principales desventajas de esta vacuna están relacionadas con los efectos adversos cutáneos (asociados al adyuvante, saponina) y a que no es posible discriminar, mediante las técnicas serológicas disponibles, los animales vacunados de los infectados de forma natural. Esta vacuna fue retirada del mercado por las autoridades competentes en el año 2014.

Además, en Brasil existe en estos momentos otra vacuna disponible (LeishTec®), a base de un antígeno recombinante de amastigotes de *Leishmania* (A2) combinado con una saponina como adyuvante⁴⁷ que ha demostrado, por el momento, una eficacia similar a las dos vacunas anteriores. Cabe destacar los estudios realizados en cuanto a la respuesta humoral de los perros vacunados y a la ausencia de interferencia de los anticuerpos vacunales con los anticuerpos detectados mediante una técnica cuantitativa tipo ELISA utilizada en el diagnóstico de la leishmaniosis visceral, lo que puede ser de gran utilidad en el seguimiento de los perros vacunados⁴⁸. No obstante, son necesarios ensayos de campo que evalúen su verdadera eficacia y seguridad.

Una tercera vacuna, desarrollada en Francia a partir del antígeno purificado excretado por promastigotes de *L. infantum* en cultivo (LiESAp), con un extracto purificado de *Quillaja saponaria* (QA-21) como adyuvante, ha demostrado, en condiciones de campo de 24 meses de duración, una protección del 92%^{43,66}. Esta vacuna fue registrada en el año 2011 en diferentes países de Europa, incluido España, con el nombre de Canileish®. La indicación aceptada para su registro en la AEMPS es *la inmunización activa de perros seronegativos a la infección por Leishmania, a partir de los 6 meses de edad, induciendo una inmunidad de un año de duración*⁴⁴. Estudios en Beagles con infección experimental re-

velaron que puede producir una fuerte respuesta inmune de base celular (Th1) a partir de las 3 semanas de la primovacuna^{43,45} y reduce las tasas de infección de flebotomos alimentados sobre los perros vacunados⁴⁶.

Los resultados de su utilización masiva por parte de los veterinarios en los diferentes países donde se comercializa son escasos en cuanto a publicaciones se refiere y no concluyentes por ahora en términos de eficacia. Y en cuanto a tolerancia, se han reportado distintas reacciones adversas (posiblemente asociadas al adyuvante, como en el caso de Leishmune®) de distinta consideración que son evaluadas por la Agencia Española del Medicamento; aunque un estudio de 3,5 años de farmacovigilancia (2011-2014) realizado por el propio laboratorio que la comercializa reportan una baja incidencia de efectos adversos (0,79%) sobre un total de más de 1,8M de dosis administradas en toda Europa⁶⁷. Sin embargo, son necesarios los resultados de estudios de campo a gran escala y de mayor duración en perros con infección natural (estudios en fase III), para demostrar su eficacia, tolerancia y seguridad a largo plazo.

Una publicación reciente⁴⁹ describía los resultados de un ensayo de campo aleatorio, en el que se estudió la eficacia de Canileish® exponiendo a 90 perros Beagles a una infección natural por *L. infantum* a lo largo de dos estaciones de riesgo en dos áreas endémicas de la Cuenca Mediterránea. La vacuna fue considerada como segura demostrando una marcada reducción del riesgo de progresión de la enfermedad, con una eficacia del 68,4% y una tasa de protección del 92,7%.

En el presente año, ha sido aprobada una nueva vacuna en Europa, Letifend® a base de una proteína recombinante de *Leishmania infantum* (MON-1), definida como proteína Q. Esta vacuna está aprobada para su utilización en animales seronegativos de más de 6 meses de edad con la indicación de *"reducir el riesgo de desarrollar una infección activa y/o enfermedad clínica después de la exposición a la infección por L. infantum"*.

Hasta el momento no existen publicaciones científicas que avalen su eficacia y nos remitimos al documento que la Agencia Europea del Medicamento ha publicado con su aprobación a registro (19 Feb 2016 EMA/CVMP/4233/2016; *Committee for Medicinal Products for Veterinary Use*).

Otras medidas

Lucha antivectorial en el hábitat

Además de los tratamientos tópicos y de la aplicación de vacunas se pueden considerar otras medidas encaminadas a controlar y disminuir la presencia del vector en el hábitat donde se encuentran los perros como son:

- Protección de ventanas, puertas de las viviendas/perreras y casetas de los perros con telas mosquiteras adecuadas, de 0,3-0,4 mm² de luz ¹.
- Reducción de los lugares de cría (materia orgánica en descomposición, restos de la poda, basuras, leñeras, etc.), evitando la presencia de hábitat favorables para los flebotomos en las proximidades de las viviendas ⁵⁰.
- Fumigación de las viviendas y alrededores, en zonas hiperendémicas, con insecticidas residuales ².

Eutanasia

Hoy día la eutanasia masiva de los perros infectados y/o enfermos está descartada en Europa ⁵¹. Es un hecho que esta medida ha supuesto un fracaso en el control de la leishmaniosis visceral humana en países como China o Brasil ⁵². En este último, el sacrificio indiscriminado de perros no ha dado ningún fruto en términos de reducción de la incidencia de la enfermedad en los humanos como lo demuestran numerosas publicaciones ^{53,52,54,55}. Existen al respecto diferentes acciones por parte de veterinarios y científicos de diferentes universidades que abogan, a través de la plataforma "Brasileish", por un cambio drástico y la suspensión de estas medidas en el control de la leishmaniosis canina ^{32,68}.

En cambio en China esa medida está actualmente descartada y ya no es obligatorio eutanasiar a los perros enfermos pero, sí obligatorio denunciar su existencia y aplicarles un tratamiento leishmanicida controlado por un veterinario ⁵⁶.

La Organización Mundial de la Salud recomienda el sacrificio obligatorio de los perros vagabundos o asilvestrados y el tratamiento y seguimiento por parte de los veterinarios de los perros con un propietario responsable ⁵⁷.

Además de la utilización de productos repelentes frente a flebotomos, se pueden establecer otras medidas de manejo que han demostrado imple-

mentar el control de la leishmaniosis canina. Así, mantener a los perros en el interior de las viviendas desde el atardecer hasta el amanecer durante toda la época de riesgo (desde mayo a noviembre en casi toda la península ibérica y sur de Europa), momento de máxima actividad para las hembras de flebotomos que abandonan los lugares de reposo para alimentarse, ha demostrado reducir la incidencia de la infección en los perros ^{58,59,51}.

Conclusiones

Por todo lo anteriormente expuesto, los esfuerzos en la investigación del control de la leishmaniosis canina deberían encaminarse a cubrir distintos aspectos de una forma integrada:

- Aplicar y desarrollar nuevas moléculas insecticidas de uso tópico con acción repelente para reducir el riesgo de transmisión.
- Conseguir nuevas vacunas con buena tolerancia y seguridad, que puedan proteger a los perros durante largos periodos de tiempo, independientemente de la endemidad del área.
- Desarrollar nuevos métodos de diagnóstico sencillos y aplicables en la clínica que permitan discriminar los perros vacunados de los naturalmente infectados.
- Definir el poder infectante de todos los principios activos empleados en el tratamiento de los perros y de las vacunas disponibles sobre los flebotomos vectores.

Por tanto, ninguna de las medidas de control se puede considerar como una acción aislada, sino que deben formar parte de un programa de prevención integral de la leishmaniosis en los perros que viven en zonas endémicas, tanto sanos, infectados clínicamente sanos y/o enfermos, como para los que viajen a las mismas.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Miró G, Molina R. Leishmaniosis canina: manejo clínico y situación actual en España. Ediciones Bayer HealthCare. 2006.
- ² Quinnell RJ, Courtenay O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology* 136, 1915-1934. 2009.
- ³ Maroli M, Gradoni L, Oliva G, Castagnaro M, Crotti A. Guidelines for the prevention of leishmaniosis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 236: 1200-1206. 2010.
- ⁴ Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M, Focheux C, Dereure J, Puech MP, Cadiergues MC. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Med Vet Entomol* 11: 105-111. 1997.
- ⁵ Halbig P, Hodjati MH, Mazloumi-Gavgani AS, Mohite H, Davies CR. Further evidence that deltamethrin-impregnated collars protect domestic dogs from sandfly bites. *Med Vet Entomol* 14, 223-226. 2000.
- ⁶ Lucientes, J. Laboratory observations on the protection of dogs from the bites of *Phlebotomus perniciosus* with Scalibor® protector bands: preliminary results. In "Canine leishmaniosis: an update" (R. Killick-Kendrick, ed), pp. 92-94. Hoechst-Roussel Vet, Barcelona. 1999.
- ⁷ David JR, Stamm, LM, Bezerra HS, Souza RN, Killick-Kendrick R, Lima JW. Deltamethrin-impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 96: 839-847. 2001.

- ⁸ Maroli M, Mizzon V, Siracusa C, D'Oorazi A, Gradoni L. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. *Med Vet Entomol* 15: 358-363. 2001.
- ⁹ Gavvani AS, Hodjati MH, Mohite H, Davies CR. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial. *Lancet* 360: 374-379. 2002.
- ¹⁰ Otranto D, Dantas-Torres F, De Caprariis D, Di Paola G, Tarallo VD. Prevention of canine leishmaniasis in a hyper-endemic area using a combination of 10% imidacloprid/4.5% flumethrin. *Parasit Vectors* 23, 6(1): 245. 2013.
- ¹¹ Reithinger R, Teodoro U, Davies CR. Topical insecticide treatments to protect dogs from sand fly vectors of leishmaniasis. *Emerg. Infect. Dis.*, 7: 872-876. 2001.
- ¹² Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Oliva G, Baneth G. Canine leishmaniasis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. *Trends Parasitol.*, 24: 371-377. 2008.
- ¹³ Mencke N, Volf P, Volfova V, Stanneck D. Repellent efficacy of a combination containing imidacloprid and permethrin against sand flies (*Phlebotomus papatasi*) on dogs. *Parasitol. Res.*, 90 (Suppl 3): S108-S111. 2003.
- ¹⁴ Miró G, Gálvez R, Mateo M, Montoya A, Descalzo MA, Molina R. Evaluation of the efficacy of a topically administered combination of imidacloprid and permethrin against *Phlebotomus perniciosus* in dog. *Vet Parasitol.*, 143: 375-379. 2007.
- ¹⁵ Otranto D, Paradies P, Lia RP, Latrofa MS, Testini G, Cantacessi C, Mencke N, Galli G, Capelli G, Stanneck D. Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/50% permethrin for the prevention of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area. *Vet Parasitol.*, 144: 270-278. 2007.
- ¹⁶ Liénard G, Bouhsira E, Jacquiet P, Warin S, Kaltsatos V, Franc M: Efficacy of dinotefuran, permethrin and pyriproxyfen spot-on on dogs against *Phlebotomus perniciosus* and *Ctenocephalides canis*. *Parasitol Res.*, 112: 3799-3805. 2013.
- ¹⁷ Frenais R, Flochlay-Sigognault A, Milon-Harnois G. Anti-feeding efficacy of Activyl[®] tick plus topical treatment of dogs against *Phlebotomus perniciosus*. *Parasites & Vectors*, 7:217. 2014.
- ¹⁸ Dumont P, Fankhauser B, Bouhsira E, Lienard E, Jacquiet P, Beugnet F, Franc M. Repellent and insecticidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against the main vector of canine leishmaniasis in Europe (*Phlebotomus perniciosus*). *Parasites & Vectors* 8: 49. 2015.
- ¹⁹ Franc M, Liénarda E, Jacquieta P, Bonneaub S, Navarro C, Bouhsiraa E, Frenais, Flochlay-Sigognault A, Milon-Harnois G. Efficacy of a new combination of fipronil and permethrin (Effitix[®]) against *Phlebotomus perniciosus* in dogs. *Vet Parasitol.*, 212: 156-160. 2015.
- ²⁰ Molina R, Lohse JM, Nieto J. Evaluation of a topical solution containing 65% permethrin against the sandfly (*Phlebotomus perniciosus*) in dogs. *Vet. Ther.*, 2: 261-267. 2001.
- ²¹ Molina R, Miró G, Gálvez R, Nieto J, Descalzo MA. Evaluation of a spray of permethrin and pyriproxyfen for the protection of dogs against *Phlebotomus perniciosus*. *Vet. Rec.*, 158: 206-209. 2006.
- ²² Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol.*, 165:1-18. 2009.
- ²³ Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. Leish-Vet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. *Parasit & Vectors* 4, 86. 2011.
- ²⁴ Miró G. Tratamiento y pronóstico. En: *Leishmaniasis. Una revisión actualizada*. L. Solano-Gallego. Servet editorial-Grupo Asís Biomedica S.L. Zaragoza. pp. 153-164. 2013.
- ²⁵ Molina R, Amela C, Nieto J, San-Andrés M, González F, Castillo JÁ, Lucientes J, Alvar J. Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* Jul-Aug; 88(4): 491-493. 1994.
- ²⁶ Gradoni L, Maroli M, Gramiccia M, Mancianti F. *Leishmania infantum* infection rates in *Phlebotomus perniciosus* fed on naturally infected dogs under antimonial treatment. *Med. Vet. Entomol.*, 1: 339-342. 1987.
- ²⁷ Alvar J, Molina R, San Andrés M, Tesouro M, Nieto J, Vitutia M, González F, San Andrés MD, Boggio J, Rodríguez F, Sáinz A, Escacena C. Canine leishmaniasis: clinical, parasitological and entomological follow-up after chemotherapy. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 88: 371-378. 1994.
- ²⁸ Guarga JL, Moreno J, Lucientes J, García MJ, Peribañez MA, Alvar J, Castillo JA. Canine leishmaniasis transmission: higher infectivity amongst naturally infected dogs to sand flies is associated with lower proportions of T helper cells. *Res. Vet. Sci.*, 69: 249-253. 2000.
- ²⁹ Ribeiro RR, Moura EP, Pimentel VM, Sampaio WM, Silva SM, Schettini DA, Alves CF, Melo FA, Tafuri WL, Demicheli C, Melo MN, Frezard F, Michalick MS. Reduced tissue parasitic load and infectivity to sand flies in dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* following treatment with a liposome formulation of meglumine antimoniate. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 52: 2564-2572. 2008.
- ³⁰ Miró G, Gálvez R, Fraile C, Descalzo MA, Molina R. Infectivity to *Phlebotomus perniciosus* of dogs naturally parasitized with *Leishmania infantum* after different treatments. *Parasites & Vectors* 4: 52. 2011.
- ³¹ Da Silva SM, Amorim I, Ribeiro RR, Azevedo EG, Demicheli C, Melo MN, Tafuri WL, Gontijo NF, Michalick MS, Frézard F. Efficacy of Combined Therapy with Liposome-Encapsulated Meglumine Antimoniate and Allopurinol in Treatment of Canine Visceral Leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother*, 56(6): 2858-2867. 2012.
- ³² Ribeiro VM, da Silva SM, Menz I, Tabanez P, dos Santos Nogueira F, Werkhäuser M, da Fonseca ALS, Dantas-Torres F. Control of visceral leishmaniasis in Brazil: recommendations from Brasileish. *Parasit & Vectors* 6:8. 2013.
- ³³ Gómez-Ochoa P, Castillo JA, Gascón M, Zarate JJ, Alvarez F, Couto CG. Use of domperidone in the treatment of canine visceral leishmaniasis: a clinical trial. *Vet J.* 179(2): 259-63. 2009.
- ³⁴ Hernández Martínez L, Llamas Matías MA, Ribas del Río F, Montoya Matute A, Checa Herraiz R, Pilar Sagredo Rodríguez P, Rupérez Noguer C, Fraile Ocaña C, Gálvez Esteban R, Pulido Gómez P, Vázquez Mezquita MV,

- Arévalo Ramón FJ, Punzón Gálvez C, Fresno Escudero M, Miró Corrales G. Eficacia clínica y parasitológica de Leishtop® una autovacuna específica en la inmunoterapia de la leishmaniosis canina: resultados preliminares. Congreso anual de AMVAC, Madrid. 2013.
- ³⁵ Palatnik-de-Sousa, C.B. Vaccines for leishmaniasis in the fore coming 25 years. *Vaccine* 26, 1709-1724. 2008.
- ³⁶ Da Silva VO, Borja-Cabrera GP, Correia Pontes NN, de Souza EP, Luz KG, Palatnik M, Palatnik de Sousa CB. A phase III trial of efficacy of the FML-vaccine against canine kala-azar in an endemic area of Brazil (Sao Goncalo do Amaranto, RN). *Vaccine* 19: 1082-1092. 2000.
- ³⁷ Borja-Cabrera GP, Correia Pontes NN, da Silva VO, Paraguai de Souza E, Santos WR, Gomes EM, Luz KG, Palatnik M, Palatnik de Sousa, C.B. Long lasting protection against canine kala-azar using the FML-QuilA saponin vaccine in an endemic area of Brazil (Sao Goncalo do Amarante, RN). *Vaccine* 20: 3277-3284. 2002.
- ³⁸ Nogueira FS, Moreira MA, Borja-Cabrera GP, Santos FN, Menz I, Parra LE, Xu Z, Chu HJ, Palatnik-de-Sousa CB, Luvizotto MC. Leishmune vaccine blocks the transmission of canine visceral leishmaniasis: absence of *Leishmania* parasites in blood, skin and lymph nodes of vaccinated exposed dogs. *Vaccine* 23: 4805-4810. 2005.
- ³⁹ Saraiva EM, de Figueiredo Barbosa A, Santos FN, Borja-Cabrera GP, Nico D, Souza LO, de Oliveira Mendes-Aguiar C, de Souza EP, Fampa P, Parra LE, Menz I, Dias JG, Jr de Oliveira SM, Palatnik-de-Sousa CB. The FML-vaccine (Leishmune) against canine visceral leishmaniasis: a transmission blocking vaccine. *Vaccine* 24: 2423-2431. 2006.
- ⁴⁰ Amorim IF, Freitas E, Alves CF, Tafuri WL, Melo MN. Humoral immunological profile and parasitological statuses of Leishmune vaccinated and visceral leishmaniosis infected dogs from an endemic area. *Vet Parasitol.*, 173: 55-63. 2010.
- ⁴¹ Borja-Cabrera GP, Santos FN, Santos FB, Trivellato FA, Kawasaki JK, Palatnik M, Palatnik-de-Sousa CB. Immunotherapy with saponin enriched-Leishmune vaccine versus immunochemotherapy in dogs with natural canine visceral leishmaniosis. *Vaccine* 28: 597-603. 2010.
- ⁴² Palatnik-de-Sousa CB, Silva-Antunes I, Morgado AA, Meinz I, Palatnik M, Lavor C. Decrease of the incidence of human to human and canine visceral leishmaniosis after dog vaccination with Leishmune in Brazilian endemic areas. *Vaccine*, 27: 3505-3512. 2009.
- ⁴³ Lemesre JL, Holzmuller P, Goncalves RB, Bourdoiseau G, Hugnet C, Cavaleyra M, Papierok G. Long-lasting protection against canine visceral leishmaniasis using the LiESAp-MDP vaccine in endemic areas of France: double-blind randomised efficacy field trial. *Vaccine* 25: 4223-4234. 2007.
- ⁴⁴ Moreno J, Vouldoukis L, Schreiber P, Martin V, McGahie D, Gueguen S, Cuisinier AM. Primary vaccination with the LiESP/QA-21 vaccine (CaniLeish®) produces a cell-mediated immune response which is still present 1 year later. *Vet Immunol Immunopathol*, 158: 199-207. 2014.
- ⁴⁵ Moreno J, Vouldoukis L, Martin V, McGahie D, Cuisinier AM, Gueguen S. Use of a LiESP/QA-21 vaccine (CaniLeish) stimulates an appropriate Th1-dominated cell-mediated immune response in dogs. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6:6. 2012.
- ⁴⁶ Bongiorno G, Paparcone R, Foglia Manzillo V, Oliva G, Cuisinier AM, Gradoni L. Vaccination with LiESP/QA-21 (CaniLeish®) reduces the intensity of infection in *Phlebotomus perniciosus* fed on *Leishmania infantum* infected dogs—A preliminary xenodiagnosis study. *Vet. Parasitol.*, 197: 691-695. 2013.
- ⁴⁷ Fernandes AP, Costa MM, Coelho EA, Michalik MS, de Freitas E. Protective immunity against challenge with *Leishmania (Leishmania) chagasi* in beagle dogs vaccinated with recombinant A2 protein. *Vaccine* 26: 5888-5895. 2008.
- ⁴⁸ De Souza MC, Silva dos Santos TM, Marques Machado L, Vieira Serufo A, Doro D, Avelar D, Leonardi Tiburcio AM, de Freitas Abrantes CH, Lins Machado-Coelho JL, Grimaldi G, Tostes Gazzinelli JrR, Fernandes AP. Antibody responses induced by Leish-Tec®, an A2-based vaccine for visceral leishmaniasis, in a heterogeneous canine population. *Vet. Parasitol.*, doi:10.1016/j.vetpar.2014.04.025. 2014.
- ⁴⁹ Oliva G, Nieto J, Foglia Manzillo V, Cappiello S, Fiorentino E, Di Muccio T, Scalone A, Moreno J, Chicharro C, Carrillo E, Butaud T, Guegand L, Martin V, Cuisinier AM, McGahie D, Gueguen S, Cañavate C, Gradoni L. A randomised, double-blind, controlled efficacy trial of the LiESP/QA-21 vaccine in naïve dogs exposed to two *Leishmania infantum* transmission seasons. *PLoS Negl Trop Dis*. 8(10): e3213. 2014.
- ⁵⁰ Sharma U, Singh S. Insect vectors of Leishmania: distribution, physiology and their control. *J Vector Borne Dis*. 45(4):255-72. 2008.
- ⁵¹ Otranto D, Dantas-Torres F. The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends in Parasitology*, 29 (7): 339-345. 2013.
- ⁵² Costa, CH. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniosis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 44: 232-242. 2011.
- ⁵³ Dantas-Torres F. Canine leishmaniosis in South America. *Parasites & Vectors* 2 (Suppl. 1), S1. 2009.
- ⁵⁴ Costa D, Codeco CT, Silva MA, Werneck WL. Culling dogs in scenarios of imperfect control: realistic impact on the prevalence of canine visceral leishmaniasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(8): e2355. 2013.
- ⁵⁵ Romero GA, Boelaert M. Control of visceral leishmaniosis in Latin-America. A systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 4: e584. 2010.
- ⁵⁶ Wang JY, Ha Y, Gao CH, Wang Y, Yang YT, Chen HT. The prevalence of canine *Leishmania infantum* infection in western China detected by PCR and serological tests. *Parasites & Vectors*, 4: 69. 2011.
- ⁵⁷ WHO Technical report of a meeting of the Expert Committee on the Control of Leishmaniases. Geneva, 22-26 March 2010.
- ⁵⁸ Martín Sánchez J, Morales-Yuste M, Acedo-Sánchez C, Barón S, Díaz V, Morillas-Márquez F. Canine Leishmaniasis in the Alpujarras (South-eastern Spain): changes over the past two decades and risk factors. *Emerg. Infect. Dis.*, 15: 795-798. 2009.
- ⁵⁹ Gálvez R, Descalzo MA, Miró G, Jiménez MI, Martin O, Dos Santos-Brandao F, Guerrero I, Cubero E, Molina R. Seasonal trends and spatial relations between environmental/meteorological factors and leishmaniosis sand fly vector abundances in Central Spain. *Acta tropica*, 115: 95-102. 2010.

- ⁶⁰ Molina R, Espinosa-Góngora C, Gálvez R, Montoya A, Descalzo MA, Jimenez MI, Dado D, Miró G. Efficacy of 65% permethrin applied to dogs as a spot-on against *Phlebotomus perniciosus*. *Vet Parasitol.*, 187 (3-4): 529-533. 2012.
- ⁶¹ Killick-Kendrick, R. The biology and control of phlebotomine sandflies. *Clin. Dermatol.*, 17: 279-289. 1999.
- ⁶² Alexander B, Maroli, M. Control of phlebotomine sandflies. *Med. Vet. Entomol.*, 17: 1-18. 2003.
- ⁶³ Brianti E, Napoli E, Gaglio G, Falsone L, Giannetto S, Solari Basano F, Nazzari R, Latrofa S, Annoscia G, Tarallo VD, Stanneck D, Dantas-Torres F, Otranto D. Field Evaluation of Two Different Treatment Approaches and Their Ability to Control Fleas and Prevent Canine Leishmaniosis in a Highly Endemic Area. *PLOS Neglected Tropical Diseases* Sept 15, 2016: 1-13.
- ⁶⁴ Michalsky EM, Rocha MF, da Rocha Lima AC, Franca-Silva JC, Pires MQ, Oliveira FS, Pacheco RS, dos Santos SL, Barata RA, Romanha AJ, Fortes-Dias CL, Dias ES. Infectivity of seropositive dogs, showing different clinical forms of leishmaniasis, to *Lutzomyia longipalpis* phlebotomine sand flies. *Vet Parasitol.*, 147: 67-76. 2007.
- ⁶⁵ Palatnik-de-Sousa CB, Barbosa Ade F, Oliveira SM, Nico D, Bernardo RR, Santos WR, Rodrigues MM, Soares I, Borja-Cabrera GP. FML vaccine against canine visceral leishmaniasis: from second-generation to synthetic vaccine. *Expert Rev Vaccines* 7: 833-851. 2008.
- ⁶⁶ Bourdoiseau G, Hugnet C, Goncalves RB, Vézilier F, Petit-Didier E, Papierok G, Lemesre JL. Effective humoral and cellular immunoprotective responses in LiESAp-MDP vaccinated protected dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 128: 71-78. 2009.
- ⁶⁷ Bretn C, Frontczak N, Gardey L. Canileish® vaccine: a review of 3 and a half years of pharmacovigilance data. *Proceedings AVEPA-SEVC*. Barcelona. 2015.
- ⁶⁸ Dantas-Torres F, Otranto D. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box. *Parasites & Vectors*, 7:22. 2014.

EL PAPEL DEL VETERINARIO CLÍNICO EN LA VIGILANCIA Y DIAGNÓSTICO DE LA LEISHMANIOSIS. PAUTAS SANITARIAS

Andrés Sánchez

Presidente de AMVAC (Asociación Madrileña de Veterinarios de Animales de Compañía).

Cada vez cobra más valor la frase acuñada por la Organización Mundial de la Salud "One World, One Health" (un mundo, una salud), como concepto interdisciplinar e interprofesional de prevención de las enfermedades y, más en particular, de las zoonosis. Los veterinarios son una profesión esencial para la sociedad porque contribuyen a evitar la transmisión de las zoonosis. Hay que tener en cuenta que el 60% de las enfermedades del hombre proceden de los animales. "Sólo si contamos con unos animales sanos, tendremos una población sana". Las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y organismos nacionales e internacionales indican que la lucha contra la Leishmaniosis se lleva a cabo combinando medidas de protección individual con medidas de salud pública y medioambientales. El concepto de "Una Sola Salud" parte del principio de que el estado sanitario de los seres humanos está relacionado con el de los animales y de que ambas poblaciones afectan al medio ambiente en el que coexisten y son afectadas por él.

Uno de los retos planteados al diseñar actividades de prevención de la Leishmaniosis es lograr contar con el apoyo de los veterinarios clínicos, ya que son los profesionales que están en permanente contacto con los propietarios de animales, que pueden detectar de forma precoz los primeros síntomas de enfermedad, que cuentan con la credibilidad y confianza de los propietarios, pudiendo recomendar programas de prevención y diagnóstico precoz que, en definitiva, deben desarrollar su responsabilidad en la salud pública y asumir el papel de agen-

tes sanitarios. Es fundamental la función del veterinario, ya que los propietarios deben ser informados sobre las características de la enfermedad, formas de transmisión, riesgos para el ser humano, distintos métodos de prevención, sobre la importancia de realizar revisiones de forma periódica al animal, e incluso llegado el caso, sobre los tratamientos más apropiados. La concienciación de los propietarios en todos los aspectos relacionados con la enfermedad es básica, ya que estos son los únicos que, en último término, tienen capacidad de adoptar medidas preventivas en sus animales de compañía y, de ese modo, disminuir a medio plazo el número de reservorios del parásito, mostrándose muy receptivos a la información que su veterinario le pueda suministrar.

El veterinario clínico de animales de compañía tiene la responsabilidad de asesorar a los propietarios. Su función reviste importancia en materia de vigilancia sanitaria porque puede ser el primero en advertir que un perro padece una enfermedad de declaración obligatoria, como en este caso la Leishmaniosis. Ante un paciente sospechoso, el veterinario clínico habrá de seguir el procedimiento marcado por la Autoridad Veterinaria para tratar y notificar tales casos.

La actualización de conocimientos por parte de veterinarios clínicos va a ser también clave a la hora de informar, de realizar labores de salud pública y de educación sanitaria, así como en las novedades en productos farmacológicos, tanto de prevención como terapéuticos. Es importante reseñar que nos encontramos ante un sector profesional dinámico,

concienciado, vocacional, que invierte mucho de su "tiempo libre" en su formación continuada.

Ante una duda sobre la salud, sea la de su mascota o la de las propias personas con las que convive, el propietario acude, en primer lugar, a su veterinario de confianza. Las distintas administraciones no son el referente en temas de salud, ya que prefiere la proximidad y confianza del clínico, fruto de su contacto estrecho mantenido en el tiempo. La salud pública no es un concepto muy interiorizado en la población en general y es imprescindible explicarlo de una forma veraz, científica, pero a la vez con un lenguaje fácil de entender, que transmita con corrección el mensaje. Existen estudios que demuestran que los veterinarios de pequeños animales están, como colectivo, muy bien valorados por la sociedad en general y por los dueños de animales de compañía en particular, que muestran un alto grado de satisfacción con sus servicios (8,8/10), con una muy elevada valoración tanto profesional (9/10) como en el trato (9,2/10).

Los veterinarios de animales de compañía constituyen un sector altamente especializado, con muchos años de dedicación en exclusiva y con un profundo conocimiento de la patología, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades de las mascotas. La indiscutible labor vocacional de su ejercicio hace que los centros de medicina veterinaria estén muy bien equipados y que los veterinarios mantengan un reciclado científico muy importante, como lo demuestran la gran cantidad de cursos, congresos, master, publicaciones y otros medios de formación continuada, que cuentan con una muy elevada participación. El veterinario clínico es consciente de la importancia de transmitir bien la información, conectando con el propietario e incluso se preocupa y dedica tiempo a la preparación en "habilidades de comunicación".

La prevención de la leishmaniasis es evidentemente pieza angular en las estrategias de control de la enfermedad. El veterinario clínico tiene la capacidad de exponer el ciclo de transmisión, la importancia del vector, los riesgos de contagio, los plazos de incubación, las posibles respuestas inmunes de su mascota y por ello su posterior evolución, los distintos productos que ofrece el mercado (fruto de estudios rigurosos y avalado por su registro farmacológico) y satisfacer las innumerables dudas que preocupan al propietario. Pero su papel no queda ahí y un aspecto aún más importante es que debe crear inquietud en aquellos propietarios que no lo demandan, para ofrecerles información, hacerles responsables y que tomen las medidas de prevención apropiadas.

La lucha contra el vector ofrece afortunadamente gran cantidad de productos en la actualidad, con una variedad de principios activos, presentaciones e incluso duración de su efecto, que solo quien conoce estrechamente al propietario y a su mascota es

capaz de aconsejar con eficacia, en función de los hábitos de vida, de la comodidad del tratamiento, de su coste, e incluso de las peculiaridades de la propia mascota, como pueden ser por ejemplo la presencia de trastornos dermatológicos. Las estrategias de prevención, así como los distintos productos, al igual que el diagnóstico y el tratamiento, son tratados en otros capítulos de esta monografía.

De forma más reciente, la prevención de la leishmaniasis en nuestros perros cuenta con productos que luchan no ya con el vector, sino que se relacionan con el sistema inmunitario del perro. Cada vez es más importante constatar que en la leishmaniasis la participación del sistema inmunitario es determinante, hasta el punto de que cada ejemplar tiene una respuesta totalmente distinta en función de su respuesta inmune celular, que condiciona marcadas diferencias, tanto en la progresión de la enfermedad, como incluso en su riesgo epidemiológico. Dentro de las estrategias de prevención de la leishmaniasis el clínico dispone de distintos productos inmunológicos, tanto vacunas, como reguladores del sistema inmune.

Las campañas de detección precoz de la leishmaniasis cuentan con una amplia implantación y consenso entre los veterinarios clínicos, constituyendo una excelente forma de chequear la salud de los perros, detectando precozmente a aquellos que han podido ser infectados y, de esta manera, hacer un seguimiento eficaz de su posterior evolución. Es importante diferenciar contagio de enfermedad, ya que cada vez más se encuentran ejemplares que o no desarrollan la enfermedad tras el contagio, pudiendo incluso neutralizar al parásito, o que tardan muchos años en enfermar, pudiendo corresponderse con alteraciones posteriores de su sistema inmunitario. El veterinario clínico, fruto de su conocimiento, decidirá las mejores medidas a tomar en cada caso en función de los resultados de las analíticas y del estado clínico del animal.

Por otra parte, la gran sensibilización del colectivo veterinario frente a esta enfermedad hace que en revisiones rutinarias ejemplares con escasos síntomas sean chequeados y con ello diagnosticados en fases muy incipientes de enfermedad, lo que mejora enormemente el pronóstico de los ejemplares afectados y disminuye drásticamente el riesgo de transmisión y su papel epidemiológico.

El diagnóstico de la leishmaniasis sigue siendo un gran reto, ya que a pesar de disponer de muchas herramientas analíticas, tanto citológicas o histopatológicas, como serológicas, el diagnóstico clínico sigue siendo imprescindible. Nuevamente es importante recordar la gran diferencia cuando nos aproximamos a la leishmaniasis entre contagio y enfermedad. Las técnicas serológicas (IFI, ELISA, inmunocromatografía, etc.) permiten confirmar el contagio, pero será la sintomatología del ejemplar, junto con analíticas complementarias (proteínograma, hematología,

PCR,...) las que nos indiquen la presencia o no de la enfermedad. La histopatología de ciertas lesiones es de gran ayuda en el diagnóstico en muchos casos.

Respecto al tratamiento de la leishmaniosis es evidente que el papel del veterinario clínico es determinante, y evitando entrar en consideraciones de productos, protocolos y demás aspectos que son desarrollados en otros apartados, sí es importante reflexionar sobre su trascendencia. En una enfermedad tan compleja y a la vez apasionante como es la leishmaniosis, es evidente que no puede aplicarse un tratamiento estándar a todos los ejemplares. Lo que sí es cierto es que existe un amplio consenso entre los especialistas sobre cuándo, cómo y con qué tratar a los perros afectados, en función de distintos parámetros.

Solo un especialista en estrecho contacto con el propietario y conociendo las particularidades de la mascota, puede ofrecer las distintas opciones terapéuticas de las que disponemos en la actualidad. Disponemos de leishmanicidas y leishmanioestáticos de probada eficacia, moduladores del sistema inmune, productos de uso inyectable u oral, con distintos efectos secundarios, etc. etc. Nuevamente en función de los hábitos de vida del perro, de la comodidad del tratamiento, de su coste, e incluso del estado de salud de la propia mascota, será posible aconsejar al propietario. La eutanasia es una opción que en algunos casos, poco frecuentes afortunadamente, podrá ser una alternativa razonable.

Tan importante como el propio protocolo de tratamiento propuesto será imprescindible un programa de revisiones del paciente, tanto de su ex-

ploración física como de revisiones analíticas. El propietario debe entender que nos enfrentamos a una enfermedad en la que aunque el pronóstico clínico es en general muy bueno, debe ser considerada a todos los efectos como una enfermedad crónica. Todo animal con leishmaniosis debe tener un calendario de revisiones periódicas indefinidas, lógicamente con una mayor frecuencia inicial, hasta que el proceso esté controlado. Se considera que un ejemplar correctamente tratado y con oportunas revisiones periódicas que informen de su estado, no juega un papel de importancia en la epidemiología de la enfermedad.

Finalmente, respecto a la sensibilización de la población en general y más particularmente de los propietarios, si bien es importante que todos los estamentos colaboren en su difusión, el papel de los veterinarios es determinante, fruto como ya hemos comentado de su credibilidad entre los propietarios. Los veterinarios realizan campañas periódicas de comunicación sobre la leishmaniosis en la que informan y aconsejan sobre las medidas preventivas a adoptar, incluidos los análisis periódicos. En muchos casos y a pesar de las dificultades de gestión, desarrollo e incluso económicas que suponen estas campañas informativas, los centros veterinarios las promueven de forma individual, confiando en su éxito y conscientes de la importancia del tema. El apoyo institucional a estas campañas sería un importante impulso para la concienciación de los propietarios y para así retomar la propuesta de la Organización Mundial de la Salud con la que partíamos *One World, One Health*.

2. BROTE DE LEISHMANIASIS EN LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID

GESTIÓN DEL BROTE DE LEISHMANIOSIS

Felipe Vilas y Fernando Fúster

Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Introducción

En el año 2010 los Servicios de Epidemiología de la Comunidad de Madrid detectaron un número inusual y preocupante de casos de leishmaniasis humana en los municipios de la zona Suroeste de Madrid (97 casos), concretamente 85 casos en Fuenlabrada, 8 casos en Leganés, 2 en Getafe y 2 en Humanes de Madrid.

A 1 de septiembre de 2014 el brote acumulaba 584 casos.

Una vez realizadas las encuestas epidemiológicas, no se encontró ningún dato significativo o factor asociado que permitiera establecer hipótesis sobre la causa de este alarmante número de casos, que por otra parte respondía al patrón normal de afectación en otros brotes similares de la cuenca mediterránea.

Por ello, los técnicos responsables de zoonosis de salud pública y los expertos en enfermedades de transmisión vectorial, ambos pertenecientes a los Servicios de Sanidad Ambiental de la Consejería de Sanidad entraron en juego para realizar el estudio del brote. Por un lado, analizaron el grado de prevalencia de la leishmaniasis en perros, dada la fuerte asociación ante el incremento de la prevalencia en perros y la aparición de casos humanos. Por otra parte, estudiaron las densidades de flebotomos en la zona afectada y su distribución territorial.

En relación al estudio de la prevalencia de leishmaniasis en perros, se analizaron 811 perros mediante kit serológico, aprovechando la campaña oficial de vacunación antirrábica realizada entre abril y mayo de 2011, encontrándose prevalencias del 1%.

Resultados que estaban dentro del rango de la más absoluta normalidad.

Aunque la especificidad del kit no supera el 90%, el alto número de animales chequeados y la confirmación posterior de los positivos por inmunofluorescencia indirecta, permitió descartar el papel preponderante del perro en este brote.

A su vez, se analizaron colonias de gatos que tampoco aportaron luz sobre el papel de dichos animales en el brote.

La investigación de los flebotomos se llevó a cabo, a pesar de las dificultades encontradas por la falta de experiencia en este tipo de estudios, gracias al esfuerzo y entusiasmo de los profesionales D. Andrés Iriso, asesorado por el Doctor Ricardo Molina y el equipo del Instituto de Salud Carlos III, y al Profesor Javier Lucientes de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Con gran esfuerzo, se colocaron numerosas trampas (222 en 2011) en la zona definida del brote (Figura 1), obteniéndose elevadas densidades de *Phlebotomus perniciosus* en numerosos puntos de los parques de Bosque Sur y Polvoranca y en zonas limítrofes al entorno de Fuenlabrada, así como en las zonas residenciales limítrofes con Bosque Sur.

Como resultado de la investigación anterior, se llegaron a las siguientes conclusiones:

1. El brote tenía una gran dimensión desde el punto de vista de casos humanos.
2. El perro no jugaba un papel importante en el mismo.
3. En la zona definida del brote había densidades muy elevadas de flebotomos (en 2011 más de 100 flebotomos/m² en algunos puntos de

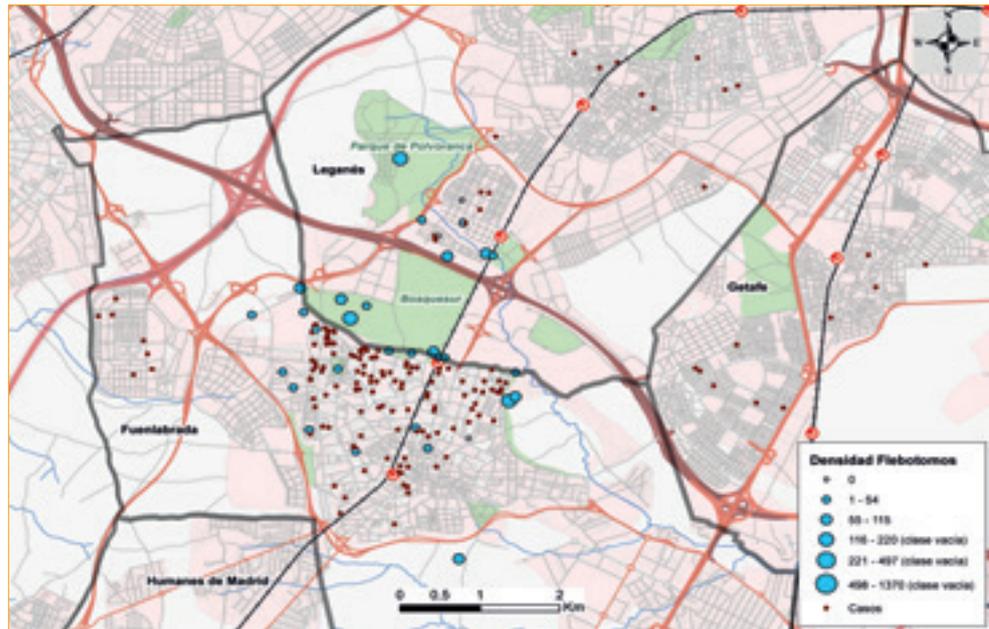


Figura 1. Vigilancia del vector 2011. Densidad de *P. perniciosus* (círculos azules). Casos de leishmaniasis humana (puntos granate).
Fuente: D.G. de Salud Pública

muestreo), que justificaban la gran capacidad de transmisión de la enfermedad.

4. Se desconocían los posibles reservorios que justificaran un brote de esa dimensión.
5. En la zona geográfica del brote, se habían producido cambios drásticos en las condiciones ambientales, como consecuencia de los desarrollos urbanísticos de los últimos 15 años. Nuevas condiciones ambientales que sin duda podrían jugar un papel significativo en la aparición del mismo.

La zona del brote en los años 70-80

Los municipios afectados, Fuenlabrada (80% de casos), Leganés (11%), Getafe (7%) y Humanes de Madrid (2%), en los años 70-80, se ajustaban al prototipo de pueblos de Castilla con escasa población y una economía ligada, principalmente, a la agricultura y ganadería de secano, con la influencia de la cercanía a la gran urbe de Madrid Capital:

- Agricultura de secano, fundamentalmente con siembra de cereal, así como un número no despreciable de explotaciones ganaderas de vacuno de leche y ovino.
- Una agricultura y ganadería periurbana polivalente y de subsistencia, con zonas rurales de terrenos baldíos pero pastados por rebaños de ovejas, caballos, burros, etc.

En definitiva, un terreno rural y periurbano con máximo aprovechamiento del suelo agrícola, en el que había también lepóridos (liebres y conejos). Históricamente la zona se ha descrito como muy propicia para la caza de estas especies, pero sometida a

una fuerte presión cinegética y ambiental tanto por la caza y depredadores, como por la siembra y el aprovechamiento de los pastos por los animales de renta. Esto hacía que la densidad de lepóridos fuera muy limitada, sin superar la cifra de 1-2 animales por Hectárea.

En cuanto a las comunicaciones, la red de carreteras se componía de carreteras provinciales que comunicaban exclusivamente los municipios entre sí y con la capital.

El nuevo desarrollo urbanístico

El nuevo desarrollo urbanístico en la zona se produce inicialmente al convertirse estos municipios en ciudades dormitorio de Madrid y, posteriormente, por el desarrollo de industria de transformación y distribución, con la aparición de numerosos polígonos industriales en todos los municipios citados.

El crecimiento demográfico produce un enorme cambio urbanístico y del uso del suelo rural que trae consigo las siguientes consecuencias:

- De una población total en la zona en los años 70, cercana a los 136.000 habitantes, se pasa a una población próxima a los 580.000 habitantes.
- Desaparición, casi total, de la ganadería existente que pastaba los terrenos rurales y sustitución de esos espacios por parques artificiales. Este hecho favorece la proliferación de lepóridos que, sin competidores que dificulten su reproducción, incrementan vertiginosamente sus poblaciones.
- Abandono de las tradicionales zonas de laboreo de secano, construyéndose en su lugar grandes polígonos industriales y una ingente red de auto-



Figura 2. Fuenlabrada en los años 60.



Figura 3. Fuenlabrada en los años 90.

Tabla 1
CENSO DE LOS MUNICIPIOS DE LA ZONA

	CENSO 1970	CENSO 1991	CENSO 2011
Fuenlabrada	7.369	144.723	198.560
Leganés	56.279	171.589	186.552
Getafe	69.396	139.190	170.115
Humanes de Madrid	1.200	7.829	18.774
Total	136.214	465.322	576.012

vías y carreteras. Por citar algunas de ellas: M-406, M-407, M-409, M-506, M-405, M-50, A-42 y R-5.

- Aparición de nuevas infraestructuras, como el tren de cercanías que atraviesa Leganés, Fuenlabrada y los parques, que favorecen la formación de taludes cerrados que facilitan el crecimiento de los lepóridos, particularmente conejos, hasta formarse verdaderas plagas.
- Creación de nuevos parques y jardines, entre los que destacan: Bosque Sur, Polvoranca, Loranca y



Figura 4. Red de carreteras de la zona.



Figura 5. Parque de Bosque Sur.

La Alhondiga. Son zonas frondosas y muy cuidadas, con sus correspondientes instalaciones de riego, que facilitan el paseo y el ocio a la población, pero en los que encontramos una enorme carga de población de liebres en los años 2010, 2011 y posteriormente de conejos en el año 2012 y 2013, cuya eliminación resulta muy dificultosa.

Análisis de los profundos cambios ambientales y primeras hipótesis de la participación de la liebre en el brote

Una vez descartada la implicación en el brote del principal reservorio tradicional, el perro, y en escasa medida el gato, se sospechó de la existencia de un nuevo reservorio, hasta el momento desconocido. La principal hipótesis recayó sobre la implicación de las liebres en el brote, dada gran densidad de su población en la zona y la cercanía de estos animales con la población en las zonas residenciales noroeste de Fuenlabrada.

Ante el creciente y descontrolado aumento de los casos en 2011, desde los Servicios de Salud Pública de la Consejería (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Subdirección de Promoción, Prevención y Educación para la Salud, hoy Epidemiología) se buscó el apoyo y asesoramiento de otras prestigiosas instituciones. El Instituto de Salud Carlos III colaboró realizando el análisis de las liebres, para ver si eran reservorios de la enfermedad, así como VISAVET (Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria de la Facultad de Veterinaria de Madrid), especialista en enfermedades vectoriales. La Dirección General del Medio Ambiente se ocupó de los métodos de captura de las liebres (*Resolución de 29 de marzo de 2012, de la Dirección General del Medio Ambiente, que declaró comarca de emergencia cinegética temporal los términos municipales de Al-*



Figura 6. Liebres en Bosque Sur.

corcón, Fuenlabrada, Getafe, Leganés y Móstoles) y la valoración de los cambios medioambientales producidos.

Así, como consecuencia de las investigaciones del Dr. Ricardo Molina, del Instituto de Salud Carlos III, se comprobó la participación activa de la liebre en el brote, como principal reservorio del mismo. La prevalencia de los animales analizados fue de un 33%, constatándose la gran capacidad de transmisión del parásito al flebotomo, unido a una elevadísima concentración de éstos en el entorno.

Justificación del brote

- Frecuentes cambios urbanísticos.
- Desaparición de la agricultura y ganadería y los usos tradicionales del suelo.
- Nuevos espacios con pasto y arbustos que facilitan la vida y la reproducción de lepóridos.
- Ausencia de depredadores y competidores.
- Red de eliminación de aguas, tarjeas y cúmulo de materia orgánica, que facilitan la reproducción del vector.
- Cercanía de los reservorios del vector a la población. En el caso de Fuenlabrada, las casas y chalets adosados con jardín linda con la zona de riesgo, de hecho se han encontrado liebres en los jardines y flebotomos en las casas.

Estas circunstancias generaron un ciclo selvático muy eficaz en la transmisión de la enfermedad al hombre.

Constitución del equipo científico

Ante la complejidad del brote, con un origen desconocido y de difícil gestión, la Dirección General de Ordenación e Inspección, hoy Dirección General de Salud Pública de la Consejería de Sanidad, asumió la

gestión del brote, con D^a Paloma Martín como máxima responsable. Fue ella quien asumió la dirección de los trabajos, los impulsó y estimuló a las numerosas instituciones y empresas implicadas en el brote. La Subdirección General de Sanidad Ambiental buscó el asesoramiento y las recomendaciones de los expertos, consiguiendo la colaboración de todos o la mayor parte de los científicos que más experiencia y conocimiento atesoraban en España en este tema, constituyéndose de este modo el Comité Científico compuesto por:

- Instituto de Salud Carlos III (centro de referencia y colaborador de la OMS para leishmaniasis). Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas y Unidad de Entomología Médica. Javier Moreno, Ricardo Molina y Javier Nieto.
- Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid. Cátedra de Entomología del Departamento de Zoología y Antropología Física. M^a Angeles Vázquez.
- Laboratorio de Vigilancia Sanitaria de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid (VISA-VET). Nivel de bioseguridad P3. Lucas Domínguez y todo el equipo de Sanidad Animal.
- Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Enfermedades parasitarias. Departamento de Patología Animal (Sanidad Animal). Javier Lucientes.
- Centro Coordinador de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES) del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.
- Dirección General del Medio Ambiente y Dirección General de Agricultura y Ganadería, ambas pertenecientes a la Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid.
- Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid.

Comunicación de la dimensión del brote y los hallazgos a la comunidad científica

La comunicación a la comunidad científica, uno de los puntos clave en la gestión del brote, se realizó en el Congreso Internacional de Leishmaniasis, organizado por la OMS en el Instituto de Salud Carlos III de Madrid, los días 26 y 27 de marzo de 2012. Este congreso fue promovido y auspiciado por el máximo responsable de la OMS para leishmaniasis en el mundo, el Doctor Jorge Alvar.

Allí se expusieron los datos epidemiológicos y la información ambiental, sobre los conocimientos adquiridos de los reservorios y del vector.

Paralelamente a la transmisión de las características del brote, dimensión y hallazgos obtenidos a

la comunidad científica, se elaboró un programa de información a los médicos de Atención Primaria y Especializada en los núcleos de población del brote y a todos los ciudadanos, tratando de transmitir de una manera veraz y transparente.

En dicho programa se recogían las siguientes medidas:

- Información a los médicos de todos los centros de salud de los municipios afectados.
- Información a los médicos especialistas en Leishmania de los hospitales de Fuenlabrada y Leganés.
- Información a la población a través de los municipios implicados: folletos, carteles con medidas preventivas, artículos en las revistas municipales, páginas web. En este sentido cabe destacar la buena implicación municipal.
- Información a las clínicas veterinarias y campaña informativa del Colegio de Veterinarios de Madrid para promover medidas preventivas en los propietarios de los perros y gatos.

Aplicación de las medidas necesarias para la gestión y control del brote. Requisitos

- Implicación de los responsables políticos al máximo nivel para que los equipos técnicos que participen en la gestión, en representación de la institución a la que pertenecen, no escatimen esfuerzos de trabajo.
- Priorización de la aplicación de recursos económicos, especialmente difícil por la crisis económica, tanto de la Comunidad de Madrid como de los Ayuntamientos.
- Constitución de un comité de gestión permanente, para priorizar y coordinar los numerosos trabajos a realizar.
- Transmisión de información, de una manera ágil y eficaz, entre todas las instituciones y equipos.
- Coordinación del comité por una única unidad de gestión, en este caso por la Subdirección General de Sanidad Ambiental.

Aplicación de un complejo programa de vigilancia y control del brote

Dada la complejidad de medidas que se han ido adoptando y del gran número de instituciones que han participado, en la tabla 2 se describen las medidas aplicadas y la institución responsable de su aplicación, según sus competencias.

Es necesario destacar el alto nivel de implicación de todas las instituciones en la gestión del brote, dada la gran dimensión de la zona urbanística

afectada, con cerca de 600.000 habitantes y más de 12.000 hectáreas de terreno, donde coexisten zonas rústicas de terreno baldío, parques urbanos y nuevos polígonos industriales en desarrollo, que dificultan sobremanera la aplicación de todas las medidas.

Evolución del brote

El análisis de la evolución del brote pasa por conocer el ciclo biológico del flebotomo, único agente que, infestado, puede transmitir la enfermedad al hombre. Su ciclo de vida oscila, en esa zona, de mayo a octubre, con algunas variaciones en función de las condiciones climatológicas del año. Los flebotomos pueden transmitir la enfermedad desde los meses de mayo-junio hasta finales de octubre, siendo más agresivas las hembras, que son las que únicamente infestan durante los meses de septiembre-octubre.

El período de incubación mínimo de la enferme-

dad se estima en 2 meses y no tiene un límite máximo, por lo que es habitual que se diagnostiquen casos humanos a los 6 meses del contagio. Por ello, se ha estimado el periodo epidemiológico en ciclos de un año, teniendo como punto de inicio y final el mes de julio, es decir, dos meses después del inicio de la actividad del vector.

Curva epidemiológica

En la curva epidemiológica se observan dos picos: uno en el período comprendido entre julio de 2010 y junio de 2011, con 173 casos y un máximo de 31 en el mes de enero de 2011, y otro entre julio de 2011 y junio 2012, con 206 casos y un máximo de 29 en el mes de enero de 2012, que se corresponde con los 3 meses posteriores al período de mayor actividad del vector.

En la temporada epidemiológica 2010-2011, se partió de la sospecha del perro como responsable

Tabla 2
COMITÉ DE GESTIÓN DEL BROTE

INSTITUCIÓN	ÁREA DE TRABAJO
Dirección General de Salud Pública de la Consejería de Sanidad	<ul style="list-style-type: none"> • Dirección de la gestión del brote para su control. • Coordinación de todas las medidas a aplicar en el brote. • Evaluación y seguimiento • Vigilancia de factores de riesgo, reservorios y vector • Diseño de medidas de prevención y control ambiental • Vigilancia epidemiológica de casos humanos • Relación con los profesionales sanitarios e información a la población (campaña informativa)
Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio	<ul style="list-style-type: none"> • Coordinación y ejecución del Plan de actuaciones medioambientales y de desinsectación • Eliminación de reservorios y vectores • Control de la densidad de población de liebres y conejos
Ayuntamientos	<ul style="list-style-type: none"> • Ejecución del Plan de actuaciones medioambientales y de desinsectación • Eliminación de reservorios y vectores en parques urbanos y jardines • Información a la población
Instituto de Salud Carlos III	<ul style="list-style-type: none"> • Investigación científica y laboratorial • Pruebas de xenodiagnóstico de los vectores y reservorios
Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid	<ul style="list-style-type: none"> • Vigilancia y análisis de vectores
Laboratorio de Vigilancia de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid (VISAVET)	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis de reservorios y sanidad animal
Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza	<ul style="list-style-type: none"> • Apoyo científico sobre reservorios y vectores
Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis de <i>Leishmania</i> en perros. • Coordinación campañas de vacunación de animales de compañía. • Coordinación de actuaciones con veterinarios clínicos • Edición de folletos • Vigilancia de carga ganadera de reservorios silvestres

Fuente: D.G. de Salud Pública

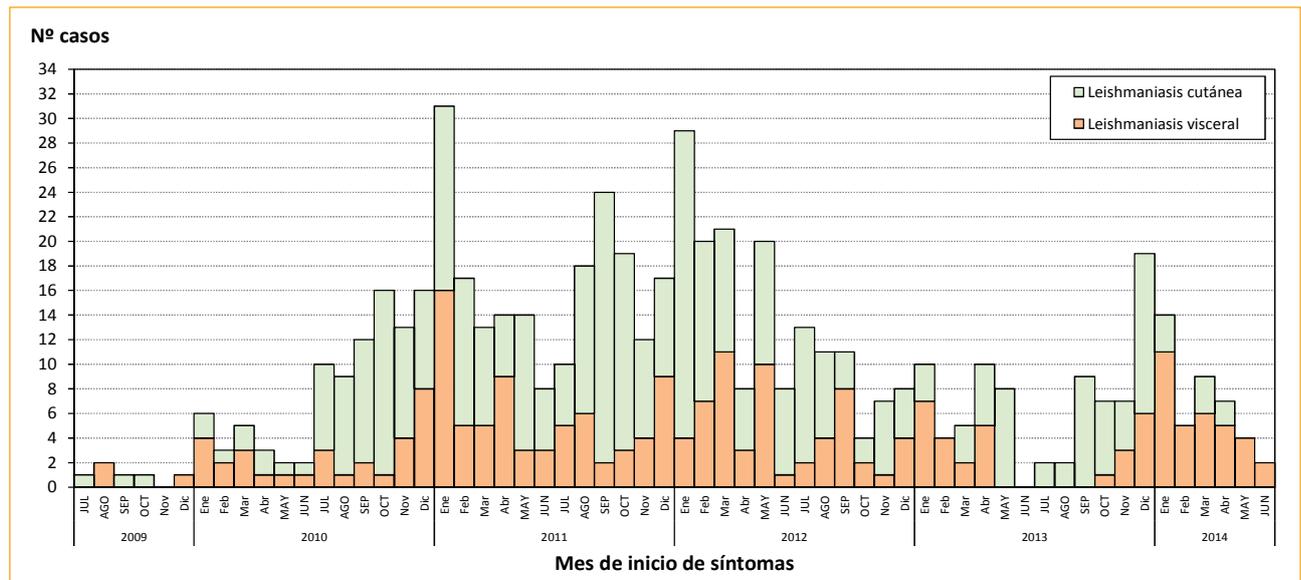


Figura 7. Brote comunitario de leishmaniosis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid. 2009-2015. Curva epidemiológica según forma de presentación, por mes de inicio de síntomas (julio 2009-junio 2014).

Fuente: Dirección General de Salud Pública. Subdirección General de Sanidad Ambiental.

del brote, al asemejarlo a otros brotes conocidos de la cuenca mediterránea. Se analizaron más de 1.000 perros, sin encontrar datos que indicaran su participación, más allá de lo esperado, y que justificara la dimensión del brote. Así mismo se comenzó con la colocación de trampas, para conocer la concentración del vector y el tipo de flebotomo. Los resultados confirmaron altas concentraciones en flebotomos por m^2 , y la presencia del *P. perniciosus*, responsable de la transmisión de la *Leishmania infantum*.

En el invierno de 2011 se hicieron los primeros trabajos de limpieza de residuos y cúmulo de materia orgánica, junto con las primeras desinsectaciones en las zonas de mayor concentración del vector. El objetivo era cortar la posible transmisión al hombre en el verano de 2011. Sin embargo, la aparición de un número de casos más que significativo en los meses finales de 2011, consolidó la sospecha definitiva de la participación de la liebre, por su enorme densidad y su cercanía a la población en el brote.

En ese mismo invierno, se procedió a la captura y análisis de liebres, logrando el ISC III un hallazgo científico de primer nivel, demostrando el papel fundamental de la liebre como reservorio en este brote: Molina R, Jiménez MI, Cruz I, Iriso A, Martín-Martín I, Sevillano O, Melero S, Bernal J. *The hare (Lepus granatensis) as potential sylvatic reservoir of Leishmania Infantum in Spain.* *Vet. Parasitol.* 2012 May 23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vepar.2012.05.006>

Durante la temporada epidemiológica (julio 2011-junio 2012), se dio el mayor número de casos del brote, con 206, lo que puso en evidencia la fuerte asociación de las liebres parasitadas por *Leishmania* con los casos humanos.

En 2012, la Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio, a través de la Subdirección General de Recursos Agrarios, realizó un gran esfuerzo para que se capturaran 1.125 liebres, con lo que los grandes parques de Bosque Sur y Polvoranca quedaron prácticamente libres de este leporido.

La medida fue muy eficaz y en la siguiente temporada epidemiológica, julio 2012-junio 2013, se registraron 91 casos, frente a los 206 de la temporada anterior. La significativa reducción del 56%, obligó a intensificar los esfuerzos en las cuatro líneas de trabajo abiertas:

- Profundizar en la investigación de nuevos portadores en la fauna silvestre.
- Intensificar la vigilancia y luchar contra el vector.
- Intensificar el control de las liebres e iniciar la investigación de los conejos, de los que también se sospechaba su participación en el ciclo selvático.
- Continuar con la aplicación de las complejas y costosas medidas medioambientales: limpieza, desbrozado y eliminación de madrigueras y otros nichos de cría del vector.

En el verano de 2013, el Instituto de Salud Carlos III puso en evidencia la alta participación del conejo también como reservorio de la enfermedad. Como consecuencia se adoptó la decisión de disminuir, de forma drástica, la población de conejos, especialmente en las zonas colindantes a la población. Jiménez M, González E, Martín-Martín I, Hernández S, Molina R. *Could wild rabbits (Oryctolagus cuniculus) be reservoirs for Leishmania infantum in the focus of Madrid, Spain.* *Veterinary Parasitology*, Vol. 202, issues 3-4, 28 May 2014.

La reducción de la población de conejos resultó ser una tarea complicada, ya que, al tratarse de parques públicos, no se podía usar las técnicas habituales de caza (armas de fuego), o el uso de perros y hurones conjuntamente. Por ello, al no disminuir drásticamente la población, la curva epidemiológica de 2013-2014 no mejoró la del año anterior. Esto puso de manifiesto la importancia de erradicar los conejos y las liebres de la zona afectada, estableciendo un nuevo programa del control de la caza, al menos 5 km de diámetro entorno al brote, para evitar la cercanía del reservorio a la población.

De este modo, se ha puesto en evidencia la necesidad del control de estas poblaciones de conejos y liebres, por parte de la Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio, en otras áreas de la Comunidad de Madrid, información a la población de las consecuencias negativas de su proliferación excesiva, ya que suponen una amenaza en la transmisión de esta enfermedad y otras como la tularemia, en el resto del territorio.

Algunas medidas para eliminar definitivamente el brote y prevenir otros

La experiencia en la gestión de este complejo brote, unido a la evidencia de que las actuaciones realizadas han conseguido un descenso progresivo del número de casos, hasta dejarlo en una tasa de mortalidad asumible, refuerzan la línea de trabajo adoptada para el control definitivo del brote:

- Intensificación de la vigilancia epidemiológica de los casos.
- Vigilancia del vector y de los reservorios (domésticos y silvestres).
- Plan de medidas medioambientales.
- Plan de comunicación e información a profesionales y población general.

La medida que se ha revelado como la más eficaz a la hora de controlar este brote ha sido la elimi-

nación generalizada de las liebres de la zona. Esta medida se ha visto complementada por otras que también se han revelado como muy útiles, como por ejemplo: la eliminación de los conejos y el sellado de sus vivares, la eliminación del hábitat del vector y los desbroces, o la limpieza y retirada de materia orgánica.

En la Comunidad de Madrid existen zonas donde se pueden dar circunstancias similares a las de este brote, por lo que es necesario estar alerta y preparados para poder abordar con éxito este tipo de situaciones. Para ello es conveniente establecer zonas de riesgo en base a criterios de modelización, teniendo en cuenta los núcleos de población cercanos a zonas con altas densidades de población de liebres y conejos, así como los casos humanos de *Leishmania* detectados en los últimos años. Los sistemas de vigilancia que se establezcan deben contemplar:

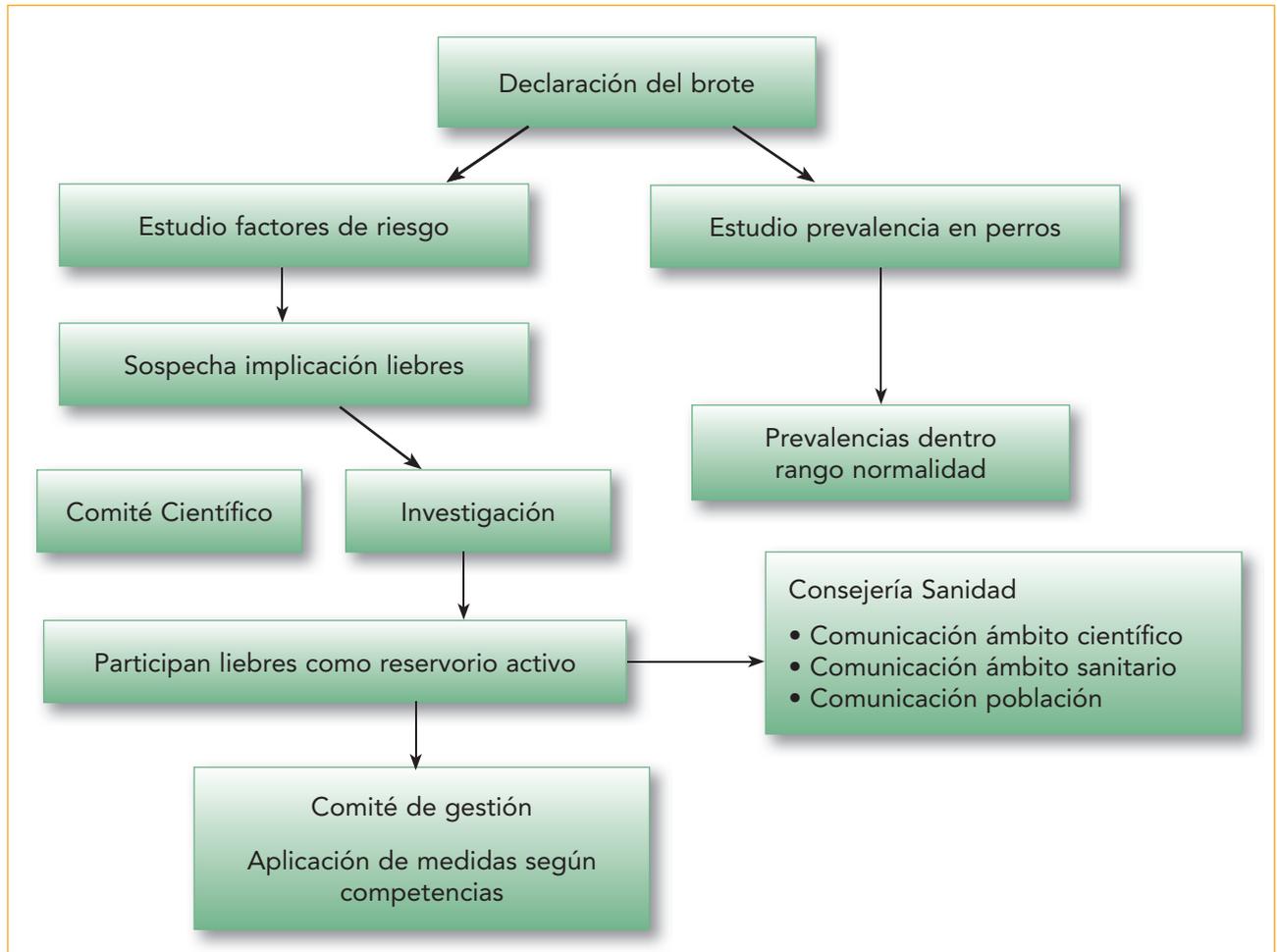
- Vigilancia epidemiológica de casos humanos.
- Vigilancia de reservorios domésticos y silvestres (liebres y conejos).
- Vigilancia del vector.
- Condicionantes medioambientales.

Por último, resaltar los aspectos clave en la gestión del brote:

- Dirección y coordinación única.
- Implicación de la comunidad científica al máximo nivel.
- Comunicación de los casos y de sus peculiaridades a los servicios médicos de atención primaria y especializada.
- Máxima información a la población.
- Comité de gestión de aplicación de las complejas medidas a adoptar y delimitación clara de responsabilidades de cada institución.
- Reevaluación periódica de la eficacia de las medidas aplicadas – Modificación del programa anual.

ANEXO 1

FIGURA DE TOMA DE DECISIONES



PROGRAMA DE VIGILANCIA E INTERVENCIÓN DE LEISHMANIOSIS

Javier Bernal.

Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Introducción

El presente capítulo pretende aportar, en el marco del brote de los municipios de suroeste de la Comunidad de Madrid, una referencia concreta de cómo llevar a la práctica lo descrito en el libro.

A raíz del aumento inusual de casos notificados al Sistema de Vigilancia de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) en el Área 9 de la Comunidad de Madrid (CM) en el último trimestre de 2010 y primero de 2011, se trata de poner en valor de manera estructurada en un programa las acciones de vigilancia y control de la enfermedad.

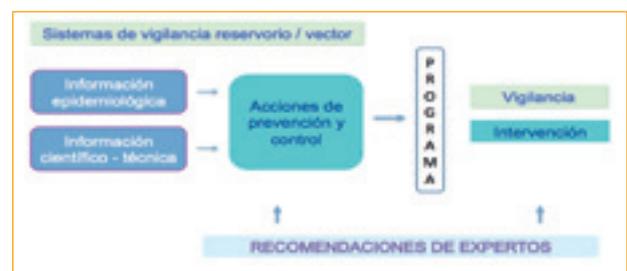
La presencia de la enfermedad en nuestro entorno ha hecho que se implementen programas de prevención, vigilancia y control de leishmaniosis desde hace décadas.

La aparición de un brote determina que salten las alarmas y se articulen dispositivos de vigilancia ampliados y nuevas acciones de intervención movilizándolo los recursos disponibles en salud pública y detectando nuevas necesidades para dar cobertura al problema.

En este punto, la experiencia en la gestión de programas facilita poder organizar una crisis en torno a un programa específico de leishmaniosis.

Existen algunos aspectos iniciales a considerar entre los que cabe destacar la identificación de:

- Fuentes de información en todos los ámbitos.
- Interlocutores internos (Epidemiología, Servicios de Salud Pública de Áreas, Promoción de Salud, etc.).
- Interlocutores externos (Medio Ambiente, ayuntamientos, laboratorios, empresas colaboradoras, organismos públicos, etc.).



- Un responsable/coordinador del programa.
- Recursos científicos en la universidad que den soporte a las decisiones.

A partir de aquí, es preciso elaborar un programa consensuado con tiempos, recursos y responsables (quién hará qué, cuándo y cómo), así como coordinar el trabajo por niveles de actuación con una definición en torno a grupos de trabajo.

Una vez consensuado con todos los participantes, el programa debe obtener el apoyo de la Dirección, ser evaluado a través de un seguimiento continuo y ser permanentemente comunicado.

Objetivo y alcance

El programa tiene dos componentes, que no se entienden el uno sin el otro, se trata de vigilar para intervenir oportuna y eficientemente, disminuyendo la incidencia de la enfermedad.

Objetivo

Vigilancia: conocer la presencia de la leishmaniosis en el hombre y en los reservorios animales (de compañía y silvestres), así como la distribución del

vector, con el fin de orientar la intervención en salud pública.

Intervención: promover la implantación de medidas de control del vector y reservorios a través de la coordinación con organismos e instituciones competentes en su ejecución (municipales, de sanidad animal, de medio ambiente, etc.).

Alcance

Municipios de suroeste de la Comunidad de Madrid: Fuenlabrada, Leganés, Humanes de Madrid y Getafe.

Vigilancia de la Leishmaniosis ¹

Es preciso señalar que las acciones de vigilancia forman parte de la competencia de la D.G. de Ordenación e Inspección como gestor del Programa, y, por lo tanto, pueden llevarse a cabo de manera independiente y autónoma, aunque de forma coordinada con otras instituciones implicadas.

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA EN EL HOMBRE

Vigilancia epidemiológica en enfermos y su entorno	Estimación	Fecha	Responsable
Reforzar a través de la vigilancia activa. Coordinación epidemiología – D.G. Ord. e Inspección: localización de los casos nuevos permite orientar las medidas de vigilancia e intervención ambiental.		Continuo	• Dirección General de Atención Primaria (D.G. A.P.)
<p>La leishmaniosis es una enfermedad endémica en la Comunidad de Madrid que se incluye como EDO con datos epidemiológicos básicos, aunque no se vigila a nivel nacional. Esto implica la exigencia de notificar semanalmente a los Servicios Territoriales de Salud Pública los casos de leishmaniasis en humanos que se hubieran detectado. En el protocolo de notificación de leishmaniasis se recoge información relacionada con el entorno del caso, con el objetivo de mejorar el conocimiento sobre los focos de riesgo ambientales y el control de la enfermedad. Tal y como se ha indicado, la clave de la vigilancia está en que oriente las decisiones de intervención, de nada sirve conocer la presencia de la leishmaniosis a "fines de inventario" si no se utiliza para el control de la enfermedad.</p>			

VIGILANCIA EN RESERVORIOS: ANIMALES DE COMPAÑÍA

Vigilancia en animales de compañía en Centros y Sociedades Protectoras Colaboradoras	Estimación	Fecha	Responsable
Mantener la vigilancia convencional en Centros de Protección Animal.	Vagabundos: 25 perros Adopción: 300 perros y 80 gatos	Continuo	• Dirección General de Ordenación e Inspección (D.G.O.I.) • Ayuntamientos
<p>El sistema de vigilancia de leishmaniosis se fundamenta en la extracción de sangre y análisis de sueros sanguíneos de aquellos animales mayores de 6 meses que ingresan en los Centros de Protección Animal y Sociedades Protectoras colaboradoras. Se dirige a tres categorías de animales: perros vagabundos, perros susceptibles de adopción y gatos susceptibles de adopción. La información de los sistemas de vigilancia del vector y del reservorio tiene un alcance limitado, se vigila en Centros de Protección Animal. En este caso se trata de darle continuidad a una actividad de vigilancia consolidada.</p>			

¹ Se presenta el Programa en el formato de ficha que se ha utilizado para su gestión. Está estructurado en acciones, no en objetivos a conseguir, aunque estos están implícitos en las estimaciones y fechas. Para su mejor comprensión se incluyen los datos de la versión utilizada en 2012.

Vigilancia en animales de compañía – screening en perros de campaña de vacunación antirrábica y focos potenciales de riesgo	Estimación	Fecha	Responsable
Realizar un muestreo representativo (screening) en perros que acudan a la campaña de vacunación antirrábica.	800 perros	Mayo - julio	<ul style="list-style-type: none"> • (D.G.O.I.) • Ayuntamientos • Dirección General de Medio Ambiente (D.G.M.A.)
Ampliación del alcance de la vigilancia a perros en focos potenciales de riesgo: núcleos zoológicos (perreras, rehalas, etc.) y explotaciones ganaderas.	Explotaciones ganaderas (57): 114 perros (100%) Núcleos zoológicos (17): 400 perros de 1.243 (30%)	Mayo - junio	<ul style="list-style-type: none"> • (D.G.O.I.) • Ayuntamientos • Dirección General de Medio Ambiente (D.G.M.A.)
<p>El screening se desarrolla de forma simultánea con la <i>Campaña Oficial de Vacunación Antirrábica</i> y se dirige a los perros mayores de 6 meses cuyos propietarios desean colaborar y acredita su residencia en los términos municipales objeto del estudio, empleándose un test rápido cualitativo BLK propuesto por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) para el diagnóstico de la enfermedad cuya utilización es simple y permite facilitar el resultado al propietario del perro de modo inmediato. Se efectúa una encuesta para medir el grado de satisfacción de los propietarios de perros respecto a la campaña. El screening en <i>perros de riesgo</i> se efectúa mediante el test rápido cualitativo BLK a perros de rehalas y protectoras, perros de los centros catalogados como</p>		<p>“residencias” por la Consejería de Medio Ambiente y perros de las explotaciones ganaderas. Así mismo, durante las visitas a los centros se realiza una inspección de las condiciones estructurales y medioambientales de los mismos, en relación a los aspectos relacionados con la presencia de factores que pueden favorecer presencia y actividad del flebotomo, para informar y asesorar a los propietarios/responsables de animales y a otras instituciones implicadas.</p> <p>A los perros positivos al test rápido cualitativo BLK se les efectúa una confirmación serológica por inmunofluorescencia indirecta (IFI) y se realiza una punción de médula ósea o de tejido ganglionar para la caracterización del parásito en clínicas veterinarias colaboradoras.</p>	



Vigilancia en animales de compañía – Red de Veterinarios Centinela	Estimación	Fecha	Responsable
Pilotar un Sistema de Vigilancia de Veterinarios Centinela en perros, basado en un sistema voluntario de notificación normalizado de casos por parte de los veterinarios clínicos.	Clínicas potenciales participantes: 29	Abril - diciembre	<ul style="list-style-type: none"> • (D.G.O.I.) • Dirección General de Medio Ambiente (D.G.M.A.)
<p>Tras la recogida de la información preliminar de los veterinarios clínicos de los municipios de la zona (28 clínicas veterinarias) a través de encuestas realizadas por los Técnicos Superiores de Salud Pública (TSSP) del Área, facilitándoles información y solicitándoles datos sobre la presencia de leishmaniosis animal en su actividad clínica, se procede a la implantación del Sistema de Vigilancia en animales de compañía, que forma parte de la RED de</p>		<p>Vigilancia de Leishmaniosis (junto al Sistema de vigilancia en fauna silvestre). Consiste en la recogida de información a través de un <i>cuestionario inicial</i> con información relativa a la estructura de veterinarios clínicos (nº de veterinarios, nº de perros vistos por día/año, información sobre su actividad), experiencia en la enfermedad evaluada (nº de casos diagnosticados en un periodo y su evolución, esta- ◆</p>	

♦cionalidad y tipos de animales infectados) y aspectos clínicos (presentación de la enfermedad, signos clínicos y frecuencias, métodos diagnósticos utilizados, medidas de prevención, tratamientos empleados, criterio de evaluación del riesgo/recomendación sacrificio). A continuación se procede a la recogida de información a través de la *notificación periódica* bimensual apoyado por los veterinarios de Salud Pública.

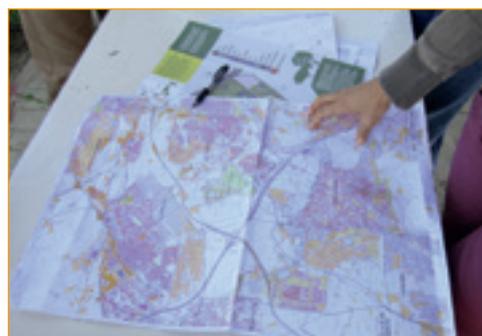
El proyecto prevé integrar otros notificadores (Centros de Protección Animal, Laboratorios, Sistemas de Farmacovigilancia, Hospital Veterinario de Madrid), un sistema de reconocimiento/incentivos así como la creación de un soporte de plataforma internet ad hoc para la RED de Vigilancia de Leishmaniosis.

VIGILANCIA EN RESERVORIOS: FAUNA SILVESTRE

Vigilancia en fauna silvestre	Estimación	Fecha	Responsable
Incorporar al sistema la vigilancia de otros reservorios potenciales (liebres, conejos, gatos y ratas)	Liebres entorno del brote: 300 Liebres otras zonas: 100 Conejos entorno del brote: 50 Conejos en otras zonas: 25 Gatos asilvestrados: 25 Ratas: 25	Enero - diciembre	<ul style="list-style-type: none"> • (D.G.O.I.) • Ayuntamientos
<p>Ante la existencia de poblaciones de reservorios potenciales, como colonias de gatos, conejos, liebres y rata negra, se propone a los ayuntamientos proceder a su captura mediante jaulas trampa y a su posterior análisis en el Instituto de Salud Carlos III.</p> <p>Tras la detección de poblaciones inusuales de estas especies en la zona del brote, particularmente de liebres y</p>	<p>conejos, se procedió a su investigación encontrándose parasitados por <i>L. Infantum</i>. Según la información de los expertos consultados que participan en el proyecto, no está descrito en la literatura científica que estas especies se comporten como reservorio de la enfermedad en nuestro entorno. Este hecho tiene una relevancia extraordinaria a la hora de implantar medidas de control en el Programa.</p>		

VIGILANCIA EN EL VECTOR (FLEBOTOMO)

Vigilancia en vectores	Estimación	Fecha	Responsable
Reforzar y ampliar el alcance del sistema de vigilancia en el vector a través de un plan de muestreo que conserve las estaciones y trampas para poder comparar e incorporar nuevas estaciones en base a nuevos puntos de riesgo identificados.	40 estaciones de muestreo	Diseño: marzo Ejecución: abril - octubre	<ul style="list-style-type: none"> • (D.G.O.I.) • Ayuntamientos
<p>Ejecución de un plan de muestreo en las zonas de riesgo identificadas y en las zonas con casos humanos. Colocación, seguimiento y análisis de trampas adhesivas convencionales y de luz para flebotomos. Se efectúan muestreos de abril a octubre (época de actividad del flebotomo), monitorizándose 38 estaciones (puntos de muestreo). Las actuaciones incluyen la caracterización de poblaciones (fo-</p>	<p>cos, densidad y especies implicadas) y el comportamiento del flebotomo (fenología) así como el estudio de la presencia y naturaleza del parásito. Los resultados sirven para conocer el protagonismo del vector en el área de estudio, identificando las zonas de riesgo y utilizándose para orientar las medidas de control ambiental.</p>		



INVESTIGACIÓN

Investigación	Estimación	Fecha	Responsable
Caracterización del parásito Xenodiagnóstico	Continuo	Diseño: marzo Ejecución: abril - octubre	<ul style="list-style-type: none"> • (D.G.O.I.) • ISCIII
<p>El Programa contempla la <i>caracterización molecular</i> del parásito, tras su cultivo y aislamiento, en muestras de reservorios y vectores.</p> <p>El <i>xenodiagnóstico</i> consiste en el estudio experimental que permite demostrar que la <i>Leishmania</i> presente en vertebrados superiores se transmite al flebotomo, adquiriendo este la capacidad para transmitir nuevamente la</p>		<p>infección a otro vertebrado superior. Se someten animales positivos a la exposición de picaduras de flebotomos libres de <i>Leishmania</i> cultivados en laboratorio, posteriormente se disecan para identificar la presencia de <i>Leishmania</i> en el flebotomo.</p> <p>Ambas acciones de investigación forman parte del Programa.</p>	



Liebres sometidas a la exposición de picaduras por flebotomos en xenodiagnóstico.



Leishmania infantum encontrada en *P. perniciosus* (xenodiagnóstico). Ricardo Molina (2012).

INTERVENCIÓN (PLAN DE ACCIÓN)

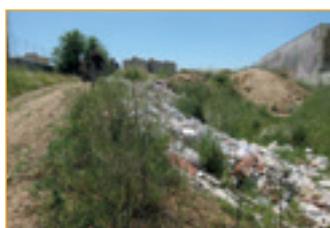
En el caso de la intervención, las acciones no forman parte de la competencia de la D.G.O.I. en cuanto a su gestión directa y, por lo tanto, es preciso

implicar y convencer a las instituciones competentes de la necesidad de destinar los recursos necesarios para su ejecución y hacerlo de manera coordinada desde la gestión del Programa.

SOBRE EL VECTOR: SANEAMIENTO AMBIENTAL Y CONTROL VECTORIAL

Intervención sobre el vector	Estimación	Fecha	Responsable
<p>Aplicación de medidas de saneamiento ambiental</p> <p>Plan de medidas ambientales</p> <ul style="list-style-type: none"> – Territorio municipal: Ayuntamientos – Territorio de la CM (parques zona suroeste, etc.): Comunidad de Madrid. D.G. Medio Ambiente. 		Diseño: Marzo Ejecución: Continuo	<ul style="list-style-type: none"> • Ayuntamientos • D.G.M.A.
<p>El plan incluye:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ampliación de la identificación de zonas de riesgo: escombreras, zonas de compostaje y de acopio de restos de poda, parques, vertederos, edificios y construcciones abandonadas, etc. • Medidas de control ambiental: desbrozado, poda y retirada inmediata de restos, limpieza y eliminación de 			<p>lodos, eliminación de escombreras, comunicación de recomendaciones de saneamiento ambiental a empresas y a comunidades de vecinos, etc.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Coordinación con otros organismos competentes en la ejecución de medidas en su ámbito (M^o de Fomento, Administrador de Infraestructuras Ferroviarias – ADIF, Confederación Hidrográfica, etc.).

Lucha antivectorial			
Plan de lucha antivectorial: quién va a hacer qué, cuándo y dónde. <ul style="list-style-type: none"> - Territorio municipal: Ayuntamientos a través de empresas concesionarias de desinfección, desinsectación y desratización (DDD). - Territorio de la CM (parques zona suroeste, etc.): Comunidad de Madrid. D.G.M.A. a través de empresa especializada. 	Territorio Municipal: planes municipales Territorio CM: 2 fases de tratamiento en primavera y otoño con 3 aplicaciones por fase	Diseño: enero Ejecución: abril - octubre	<ul style="list-style-type: none"> • Ayuntamientos • D.G.M.A.
El plan incluye: <ul style="list-style-type: none"> • Plan de desinsectación en zonas de riesgo, revisión de los planes de desinsectación convencionales adaptándolos a los puntos de riesgo. • Tratamiento periódico de desinsectación con insecticidas biológicos y piretroides. 		<ul style="list-style-type: none"> • Tratamientos fitosanitarios de arbolado y zonas verdes. • Tratamiento de desinsectación y desratización de la red de alcantarillado y red de recogida de pluviales. • Comunicación con recomendaciones a comunidades de vecinos y empresas sobre la necesidad de tratamientos DDD a instalaciones. 	



SOBRE EL RESERVORIO: ANIMALES DOMÉSTICOS, SILVESTRES, DESRATIZACIÓN

Medidas de control en poblaciones animales	Estimación	Fecha	Responsable
Medidas de control en animales domésticos : <ul style="list-style-type: none"> - Recogida de animales abandonados, control de colonias de gatos. - Promoción del uso de repelentes y antiparasitarios externos en población canina por los veterinarios clínicos. - Seguimiento de animales infectados (valorar en el marco del Sistema de Vigilancia de Veterinarios Centinela). 	Perros: 220 Gatos: 60	Continuo	<ul style="list-style-type: none"> • Ayuntamientos • D.G.M.A. • D.G.O.I.
Control de poblaciones de animales domésticos: recogida de animales abandonados, control de colonias de gatos			
Medidas de control en animales silvestres : plan de control de poblaciones de liebres y conejos para disminuir la población de estas especies. <ul style="list-style-type: none"> - Territorio municipal: Ayuntamientos (parques, accesos de lindes territoriales, etc.). - Territorio CM (parques zona suroeste, etc.): Comunidad de Madrid. D.G.M.A. 	Capturas de liebres: 700 Capturas de conejos: 150	Diseño: marzo Ejecución: Continuo	<ul style="list-style-type: none"> • Ayuntamientos • D.G.M.A.
Desratización: <ul style="list-style-type: none"> - Territorio Municipal: Ayuntamientos, a través de los planes municipales de DDD. - Territorio CM (parques zona suroeste, etc.): Comunidad de Madrid. D.G.M.A. 		Diseño: marzo Ejecución: Continuo	<ul style="list-style-type: none"> • Ayuntamientos • D.G.M.A.
El plan incluye: <ul style="list-style-type: none"> • Un estudio poblacional previo (empresa cinegética, federación de cazadores, etc.). • Un plan de capturas de liebres (<i>Lepus granatensis</i>) y conejos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) que, a parte de su potencial papel como reservorios activos, facilitan la mul- 		<ul style="list-style-type: none"> tiplicación del vector porque aportan alimento fácil al mismo y porque las madrigueras son un hábitat idóneo para su multiplicación • Un plan de medidas ambientales: eliminación de madrigueras como posibles focos de proliferación de vector, eliminación de pasos, etc. 	



EDUCACIÓN SANITARIA: ACCIONES DE COMUNICACIÓN A LA POBLACIÓN

Plan de comunicación y educación sanitaria	Estimación	Fecha	Responsable
<p>Información a los profesionales médicos/DUE's, veterinarios y farmacéuticos</p> <ul style="list-style-type: none"> – Médicos/DUE's: sesiones informativas en coordinación con Epidemiología para Atención Primaria y Especializada. – Veterinarios: visitas personalizadas y sesiones informativas. – Argumentario con las preguntas más frecuentes sobre la enfermedad, a disposición de los médicos, veterinarios clínicos, farmacéuticos, ayuntamientos, centros educativos, etc. 	<p>Sesiones informativas en todos los Centros de Atención Primaria y Hospitales de Fuenlabrada, Leganés y Getafe.</p> <p>Visitas personalizadas y sesiones informativas a todas las clínicas veterinarias (40).</p>	Marzo - junio	<ul style="list-style-type: none"> • D.G.A.P. • D.G.O.I.
<p>Información a los propietarios de perros</p> <ul style="list-style-type: none"> – Folleto informativo sobre la enfermedad para propietarios de perros en campañas de vacunación, clínicas veterinarias, centros municipales, Sº de Salud Pública, sistema asistencial, etc. – Recomendaciones a titulares de explotaciones ganaderas y núcleos zoológicos con un documento ad hoc distribuido personalmente. 	<p>4.000 folletos para los propietarios de perros.</p> <p>74 núcleos y explotaciones informados con perros de riesgo.</p>	Continuo	<ul style="list-style-type: none"> • D.G.O.I. • Ayuntamientos • D.G.M.A.
<p>Información a la población:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Folleto informativo dirigido a población general sobre las medidas de protección personal frente a las picaduras. – Inserción de artículos en la prensa institucional local. – Cartel informativo para la protección personal. 	<p>30.000 folletos a Ayuntamientos</p>	Abril - octubre	<ul style="list-style-type: none"> • Ayuntamientos

Modelo de protocolo de intervención ante casos humanos

Actuación en el entorno

- Visita para identificación de factores ambientales en el entorno del caso.
- Remisión de información a los Ayuntamientos de los puntos de riesgo detectados para la aplicación de medidas correctoras.
- Recogida de información de actuaciones de los ayuntamientos por parte del Área de Salud Pública.

Actuación en reservorio

- Identificación de censo canino en el entorno (Registro de Identificación de Animales de Compañía – RIAC: Colegio de Veterinarios de Madrid). A solicitud del Área, Servicios Centrales gestiona la solicitud e informa al Área.
- Carta personalizada a los propietarios de perros con información sobre la enfermedad, incluyendo folleto y recomendando el diagnóstico de leishmaniosis en clínicas veterinarias. A remitir por los ayuntamientos.
- Identificación de núcleos de perros en el entorno (Área de Bienestar Animal).

- Visita conjunta a núcleos de perros con Bienestar Animal para el diagnóstico de leishmaniasis (gratis) y/o carta personalizada con información sobre la enfermedad (incluyendo el folleto) y recomendando el diagnóstico de leishmaniasis en clínicas veterinarias.
- Identificación de clínicas veterinarias (Colegio de Veterinarios de Madrid).
- Carta y/o correo electrónico a todas las clínicas ofertando una visita personalizada de los Técnicos Superiores de Salud Pública (TSSP) del Área de Salud Pública para informarles y obtener información a través de un cuestionario.

Actuación en vector

- Valoración de la captura de flebotomos con trampas adhesivas en función de las características del caso: presencia de áreas de riesgo, época del año – mayo a noviembre, etc.
- Gestión de capturas de flebotomos para su identificación y aplicación de medidas de intervención, en su caso.

Informe final

- Elaboración de un informe por parte del Área de Salud Pública y remisión a los agentes iden-

tificados en el Área y a la Sección de Zoonosis y Riesgos Biológicos.

Gestión de la información del programa de vigilancia e intervención

Entradas

La información procedente de los sistemas de vigilancia debe ser recogida por el Programa y analizada con un doble objetivo, servir para la toma de decisiones de intervención y ser comunicada.

Salidas - Difusión de información

La información debe ser presentada de forma periódica por parte del Programa a todas las instituciones implicadas utilizando los canales habituales de los sistemas de vigilancia, como son los boletines semanales y mensuales, informes anuales de situación en la Comunidad de Madrid, y habilitando nuevos canales con información de seguimiento de las acciones, informes de situaciones de especial riesgo, recomendaciones elaboradas por los expertos y recomendaciones elaboradas por el Programa.

Estas acciones de comunicación interna y externa dirigidas a responsables sanitarios, Áreas de Salud Pública, instituciones colaboradoras, participantes en el sistema de vigilancia, etc. son claves en la ejecución del Programa.

ANEXO 1

PARTICIPANTES Y COLABORACIÓN DE EXPERTOS

Participantes en el programa

- Los ayuntamientos a través de la coordinación de los técnicos de las concejalías de salud correspondientes, quienes tienen la competencia en la ejecución de las medidas de control.
- La Subdirección General de Sanidad Ambiental presta apoyo y asesoría técnica al Área y a los ayuntamientos, coordina la relación con los expertos y, a través de los Servicios de Salud Pública de Área, coordina todas las acciones a nivel local.
- El Colegio de Veterinarios de Madrid aporta la financiación de la edición de los folletos, de los kits rápidos de detección empleados en el *screening* serológico de reservorios, de los veterinarios colaboradores de apoyo y de los costes que se derivan de la vigilancia que se efectúa por organismos expertos colaboradores.
- La Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio:
 - Área de Protección Animal de la Subdirección General de Recursos Agrarios, en la gestión del *screening* en rehalas, residencias caninas, etc.
 - Laboratorio Regional de Sanidad Animal (IMIDRA – Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo), facilita el soporte analítico de vigilancia en perros.
 - Servicio de Gestión de Espacios Protegidos de la Subdirección General de Gestión y Ordenación de Espacios Protegidos en la identificación y aplicación de medidas de control ambiental en Bosque Sur y Parque Polvoranca.
- Centros de Protección Animal colaboradores: 17 centros.
- Granjas escuelas colaboradoras.
- Asociaciones de cazadores.
- Servicios de Guardería – Comarcas de Medio Ambiente – Ministerio del Interior / Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio.
- SEPRONA (Servicio de Protección de la Naturaleza) – Ministerio del Interior.
- Centro de Recuperación Fauna Silvestre – Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio.
- Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET). Facultad de Veterinaria (UCM).
- Instituto de Salud Carlos III (WHO Collaborating Centre for Leishmaniasis).
- Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria (UCM).
- Departamento de Zoología y Antropología Física. Facultad de Ciencias Biológicas (UCM).

Colaboración de expertos

Contactos y coordinación con expertos en leishmaniosis para apoyar técnicamente la investigación y las actuaciones, definir el enfoque del proyecto, la participación de cada organismo y contrastar aspectos técnicos y de recursos.

Organismo	Experto	Cargo
Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET)	Lucas Domínguez	Director. Catedrático de Universidad UCM
	Nerea García	Jefe de Laboratorio. Servicio de Zoonosis Emergentes, de Baja Prevalencia y Agresivos Biológicos
	Sergio González y Marta Pérez	Servicio de Zoonosis Emergentes, de Baja Prevalencia y Agresivos Biológicos
Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET)	Ricardo Molina	Servicio de Parasitología. Entomología Médica
	Maribel Jiménez	Servicio de Parasitología. Entomología Médica
	Carmen Cañavate	Servicio de Parasitología. Leishmaniosis y enfermedad de Chagas
	Javier Nieto	Servicio de Parasitología. Leishmaniosis y enfermedad de Chagas
Facultad de Veterinaria (UCM)	Guadalupe Miró	Prof. Titular de Parasitología y Enfermedades Parasitarias del Departamento de Sanidad Animal
Facultad de Ciencias Biológicas (UCM)	M ^a Ángeles Vázquez	Prof. Titular del Departamento de Zoología y Antropología Física
Hospital Ramón y Cajal de Madrid	Rogelio López-Vélez	Unidad de Medicina Tropical. Servicio de Enfermedades Infecciosas

ANEXO 2

LEGISLACIÓN DE REFERENCIA

- *Directiva 2003/99/CE, sobre vigilancia de zoonosis, agentes zoonóticos, resistencia antimicrobiana y brotes de origen alimentario.*
- *R.D. 1940/2004, de 27 de septiembre, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos.*
- *Decisión 2119/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 24 de septiembre de 1998, por la que se crea una red de vigilancia epidemiológica y de control de las enfermedades transmisibles en la Comunidad.*
- *Decisión de la Comisión de 22 de diciembre de 1999, relativa a las enfermedades transmisibles que deben quedar progresivamente comprendidas en la red comunitaria, en aplicación de la Decisión nº 2119/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.*
- *R.D. 2210/95 de 28 de diciembre, por el que se crea la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.*
- *D. 184/1996, de 19 de diciembre, por el que se crea la Red de Vigilancia Epidemiológica de la CM y Orden 9/1997, de 15 de enero para el desarrollo del D. 184/1996.*
- *Decisión de la Comisión de 22 de diciembre de 1999, relativa al sistema de alerta precoz y respuesta para la vigilancia y control de las enfermedades transmisibles en aplicación de la Decisión nº 2119/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.*
- *R.D. 617/2007, de 16 de mayo, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación y Orden ARM/831/2009, de 27 de marzo, por la que se modifican los anexos I y II del R.D. 617/2007.*
- *REGLAMENTO (CE) No 2160/2003 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO, de 17 de noviembre de 2003, sobre el control de la salmonella y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos.*

ACTUACIONES EN EL TERRITORIO

Servicio de Salud Pública del Área 9 y 10

Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

En el último trimestre del 2010, se detectó un aumento en la comunicación de los casos de leishmaniasis en el municipio de Fuenlabrada, en el Área 9 de Salud Pública de la Comunidad de Madrid. Dicha Área se encuentra situada al suroeste de la región y engloba a cuatro municipios: Fuenlabrada, Leganés, Humanes de Madrid y Moraleja de Enmedio. La población censada total es de 406.996 habitantes y existen dos Hospitales de Referencia: Hospital de Fuenlabrada y Hospital Severo Ochoa de Leganés, y 17 Centros Asistenciales de Atención Primaria.

Al ser la leishmaniasis una enfermedad de declaración obligatoria (EDO) en la Comunidad de Madrid, por considerarse endémica (D. 184/1996, por el que se crea la Red de Vigilancia epidemiológica de la Comunidad de Madrid; Orden 445/2015, que modifica la lista de enfermedades de declaración obligatoria y enfermedades endémicas de ámbito regional), la comunicación de los casos se llevó a cabo desde los Servicios de Medicina Preventiva de los Hospitales de Referencia y a través de los Centros de Salud de Atención Primaria de la zona. Siendo el Servicio de Salud Pública del Área 9 el encargado de realizar la correspondiente investigación de los casos.

Una vez constatado el inusual aumento de notificaciones, mediante la coordinación con las entonces Direcciones Generales de Atención Primaria y de Ordenación e Inspección, de la Consejería de Sanidad, se formó un equipo multidisciplinar capacitado para la investigación del brote y se estableció la planificación inicial con medidas a tomar, entre las que se incluyeron:

- Elaboración de una encuesta más exhaustiva que la utilizada hasta el momento, para recabar más

información y poder definir y concretar el concepto de caso.

- Realización de un estudio de campo para determinar las condiciones medioambientales del municipio afectado.
- Revisión del censo canino y de la situación epidemiológica de la leishmaniasis canina en el municipio.
- Realización de una revisión bibliográfica del vector y de los reservorios.
- Establecimiento de vías de comunicación ágiles entre las instituciones implicadas (Ayuntamientos de Fuenlabrada y Leganés, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Ministerio de Sanidad, Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Veterinaria, Centro de Salud, Hospitales, etc.), en relación a la información generada sobre el brote, así como de las estrategias a seguir.

Dentro del reparto de funciones, la Subdirección General de Epidemiología realizó el estudio epidemiológico del brote y su vigilancia, mientras que la Subdirección General de Sanidad Ambiental elaboró el plan de actuación en los territorios implicados. El Área 9 de Salud Pública actuó como responsable de la coordinación con los municipios y la recogida de información suministrada por estos. Además, ofreció el espacio físico necesario para la celebración de reuniones periódicas, cuyo objetivo era el compartir información, plantear estrategias de actuación y otros acuerdos varios. Los ayuntamientos involucrados en el brote tienen competencias en su término municipal, con lo cual se hizo imprescindible contar con su participación en todo momento para el desarrollo de un plan de vigilancia y control del vector y reservorio.

Así mismo desde el Área 9, se procedió a la realización de visitas tendentes a identificar factores de riesgos existentes en la zona norte de la localidad de Fuenlabrada. También se realizaron diversas visitas de inspección ante la aparición de casos humanos que, por su singularidad, se estimó que lo requería (varios casos en una misma familia, aparición de casos en zonas nuevas, etc.). Para ello se completó y amplió los cuestionarios existentes que recogían diversa información de los factores de riesgos relacionados con la aparición de casos humanos de leishmaniasis.

En cada una de estas visitas se elabora un informe con los datos recogidos, que se remite a la Subdirección General de Sanidad Ambiental y, si procede, al ayuntamiento o empresa que pudiera estar implicada por razón de presencia de algún factor de riesgo en la transmisión de la enfermedad.

En el marco complejo de la gestión, coordinación y actuaciones para la vigilancia y control de este brote, llevado desde la hoy Dirección General de Salud Pública, el Área 9 de Salud Pública asumió las siguientes funciones:

- **Colaboración en la identificación de las zonas de riesgo:** Centros de Protección Animal (CPAs), rehalas, explotaciones ganaderas, núcleos zoológicos, etc.
- **Vigilancia de la infección en perros:** mantenimiento de la vigilancia serológica en los CPAs y refuerzo en los focos potenciales de riesgo. Recogida de información sobre prevalencia de leishmaniasis en perros en las clínicas veterinarias de la zona.
- **Colaboración en la vigilancia del vector:** colocación de trampas e identificación de los flebotomos.
- **Colaboración en la aplicación de medidas de control ambiental en el ámbito municipal:** desinsectación en las zonas de riesgo y otras medidas de saneamiento ambiental en zonas de escombreras y vertederos.
- **Educación sanitaria:** edición y distribución de folletos informativos sobre la enfermedad y su prevención, a la red asistencial y a la población.

Colaboración con ayuntamientos.

La formación e información a los ayuntamientos sobre la identificación de las zonas de riesgo para la proliferación del vector, así como la notificación de riesgos ambientales detectados desde el Área, mediante la realización de visitas de inspección por parte de los técnicos, fue un punto fundamental en el desarrollo del plan.

Entre otras, se canalizaron, a los distintos ayuntamientos, las acciones diseñadas, desde la Subdirección General de Sanidad Ambiental y la Conse-

jería de Medio Ambiente, de intervención sobre el reservorio y el vector como: control del reservorio silvestre y doméstico, actuaciones ambientales de modificación del hábitat y eliminación de puntos de riesgo; y el tratamiento insecticida para reducir la población del flebotomo y su capacidad vectorial.

Otras actuaciones propuestas fueron las referentes a la vigilancia del reservorio, tales como inspecciones para conocer la distribución de liebres, conejos y colonias de gatos. En cuanto a la vigilancia del vector, se les pidió la participación en una red de vigilancia del vector con trampas adhesivas y de luz, y en estudios de detalle.

Las actuaciones realizadas por los ayuntamientos fueron comunicadas mediante distintos modelos de fichas, elaboradas para este fin, donde se recogían tanto las actuaciones ambientales realizadas (anexo 1), como los tratamientos de desinsectación de flebotomo (anexo 2) y los productos utilizados (anexo 3). De igual manera, se recopiló la información de las actuaciones llevadas a cabo por los ayuntamientos, mediante una ficha donde se recogía el periodo de ejecución de cada actividad y su georeferenciación (anexo 4). Toda la información se recopiló en informes, periódicos y actualizados, según los datos aportados por todas las instituciones participantes.

Vigilancia de Leishmaniasis en los perros de la zona.

Otro punto a destacar dentro de este plan, fue la colaboración de las clínicas veterinarias de los municipios de Fuenlabrada, Leganés, Humanes de Madrid y Moraleja de Enmedio.

Tras la recogida de la información preliminar de los veterinarios clínicos de los municipios de la zona (28 clínicas veterinarias), a través de encuestas realizadas por los Técnicos Superiores de Salud Pública (TSSP) del Área, donde se les facilitaba información y se les solicitaba datos sobre la presencia de leishmaniasis animal en su actividad clínica, se procede a la implantación de un proyecto piloto de la Red de Vigilancia de leishmaniasis en perros, con la participación de clínicas veterinarias centinela.

En la creación de esta Red de Vigilancia se tomó como modelo la Red de Médicos Centinelas de la Comunidad de Madrid, que actúa desde el año 1991 como un sistema específico de vigilancia epidemiológica y es complementario de los sistemas básicos. Su objetivo principal es la obtención de información sobre enfermedades o procesos de interés que es difícil de conseguir a través de otras fuentes.

Los sistemas centinela se basan en la notificación de casos de determinados procesos considerados de interés en salud pública, en este caso, por parte de un grupo de veterinarios voluntarios. La recogida de información no debe ser complicada, ya que los

Tabla 1
RED DE VETERINARIOS CENTINELA 2013 (18/12/2013)

CV	MUNICIPIO	CUEST. INL	Nº P/AÑO	NOTIF (6/año)/CASOS	TEST SCREE.	MUESTRAS TEST S.	POSITIVOS TEST S.
	FUENLABRADA						
EUROPA Fuen.		No		Sí (3º y 4º) / 1	No		
EXÓTICOS		No		Sí (3º) / 1	No		
LA AVANZADA		Sí	350	Sí (1º) / 0	No		
LORANCA		Sí	1.800	Sí (3º) / 1	Sí (1 + / 21)	21	1
PANDA		Sí	1.500	No	Sí (1 +)	1	1
PARQUE DE LOS ESTADOS		No		No	Sí (25 -)	25	0
PUPPY GUAU		Sí	2.000	Sí (1º y 2º) / 1	No		
SAN ESTEBAN		No		Sí (2º, 2º, 5º y 6º) / 0	No		
LA SERNA		No		No	Sí (2 + / 24)	24	2
	HUMANES						
HUMANES		Sí	600	Sí (1º) / 0			
SAN ANTÓN		Sí	1.700	Sí (2º) / 1	Sí (1 +)	1	1
	LEGANÉS						
ACUARIO		No		No	Sí (12 -)	12	0
DOBERMAN II		Sí	-	Sí (1º, 2º, 3º y 4º) / 3	Sí (3 -)	3	0
EUROPA Leg		Sí	500	Sí (1º, 3º y 4º) / 1	Sí (29 -)	29	0
TUCÁN		Sí	1.200	Sí (1º, 2º, 3º y 4º) / 0	Sí (25 -)	25	0
ZARZAQUEMADA		No		Sí (2º) / 3	Sí (1 -)	1	0
MALINA		No		Sí (3º y 4º) / 0	No		
	MORALEJA						
MORALEJA		Sí	350	Sí (2º, 3º y 4º) / 1	Sí (1 + / 25)	25	1
17			10.000	14	TOTAL	167	6
C.V. NOTIFICADORAS: 14			CENSO ESTIMADO 14.000	Nº CASOS: 14			

notificadores deben dedicar parte de su tiempo en sus consultas para la notificación.

El conocimiento de la distribución de enfermedades se hace tradicionalmente a través de trabajos de vigilancia de campo con procesos de muestreo para detectar animales infestados, vectores y factores epidemiológicos. Estos procesos son precisos y efectivos pero son costosos por personal, tiempo de trabajo, enfoque multidisciplinar y por el número de análisis que hay que realizar. Como aspectos negativos cabe reseñar la tardanza en la obtención de resultados y que normalmente se realiza en áreas concretas, no pudiendo extrapolar, por lo tanto, los resultados obtenidos.

Es preciso combinar la vigilancia convencional con un enfoque epidemiológico a través de observadores profesionales (centinelas que declaran casos regularmente observados de enfermedades seleccionadas). Así se obtiene información rápidamente de un territorio amplio y es fácilmente entendible por todo el entorno profesional.

Los objetivos principales de la Red de Vigilancia de Leishmaniasis en perros son:

- Asegurar la recogida, análisis y difusión de datos sobre la presencia de la leishmaniasis a través de la cooperación en el libre intercambio de información.
- Recoger la experiencia de organismos y personas, unificar criterios y optimizar recursos.
- Compartir información para la toma de decisiones.
- Disponer de un sistema de alerta temprana.
- Poner información oportuna a disposición de quien la necesite.
- Fomentar el desarrollo de investigaciones y la producción científica.
- Cumplimiento legal.
- Emitir recomendaciones para la aplicación de medidas de control eficaces.

La red funciona con la recogida de información a través de un cuestionario inicial (anexo 5) a los veterinarios clínicos sobre la actividad llevada a cabo (nº de veterinarios, nº de perros vistos por día/año...),

la experiencia en la enfermedad evaluada (nº de casos diagnosticados en un periodo y su evolución, estacionalidad y tipos de animales infectados) y aspectos clínicos (presentación de la enfermedad, signos clínicos y frecuencias, métodos diagnósticos utilizados, medidas de prevención, tratamientos empleados, criterio de evaluación del riesgo/recomendación sacrificio). A continuación se procede a la recogida de información a través de la *notificación periódica* bimensual apoyado por los veterinarios de Salud Pública.

El proyecto, además, integra otros notificadores (Centros de Protección Animal, laboratorios, sistemas de farmacovigilancia, Hospital Veterinario de Madrid), un sistema de reconocimiento/incentivos así como la creación de un soporte de plataforma internet *ad hoc* para la RED de Vigilancia de Leishmaniasis.

Los datos obtenidos por el funcionamiento de la Red de Vigilancia durante el año 2013 se recogen en la Tabla 1.

ANEXO 1

MODELO DE FICHA DE ACTUACIONES AMBIENTALES POR PARTE DE LOS AYUNTAMIENTOS

Municipio: _____

Periodo: _____

Fecha	Localización	Riesgo ambiental	Medida correctora	Observaciones

Firma

Nombre y apellidos:

Cargo en el Ayuntamiento:

ANEXO 2
FICHA DE DESINSECTACIÓN

PARTE DE TRATAMIENTO DE DESINSECTACIÓN DE FLEBOTOMO

Municipio: _____

Empresa aplicadora: _____

Responsable de aplicación: _____

Fecha: _____

Hora: _____

TRATAMIENTO

Producto utilizado (nombre comercial): _____

Método de aplicación

- Aspersión
- Nebulización
- Termonebulización
- Espolvoreo
- Recubrimiento

Dosis empleada (dilución): _____

Equipo utilizado: _____

Lugar de aplicación (identificar)

- Calle
- Colegio
- Edificio público
- Otros: _____

Dirección: _____

Elementos tratados

- Imbornal
- Muro
- Jardín
- Otro (número o superficie tratada): _____

Acción residual (hasta): _____

Firma

ANEXO 3

FICHA DE PRODUCTO

Municipio:

Empresa aplicadora:

Responsable de aplicación:

Punto aplicación (coordenadas)	Día y hora	Tratamiento saneamiento previo	Producto utilizado (nombre comercial) y dosis (dilución)	Método aplicación

ANEXO 4

PLAN DE ACTIVIDADES DE AYUNTAMIENTOS

PROGRAMA DE LEISHMANIASIS

PLAN DE INTERVENCIÓN

ACTIVIDAD	PERIODO DE EJECUCIÓN	GEOREFERENCIACIÓN
MEDIDAS DE SANEAMIENTO AMBIENTAL		
Identificación de zonas de riesgo en relación al vector (escombreras, zonas de compostaje y de acopio de restos de poda, parques, vertederos, edificios y construcciones abandonadas, etc.).		
Poda de arbolado y retirada inmediata de restos.		
Desbrozado y reducción de los intervalos entre desbroces.		
Traslado de zona de acopio de restos vegetales (alejado de viviendas).		
Desecación de las lagunas estacionales y estanques de pluviales.		
Limpieza y eliminación de lodos de imbornales y canaletas.		
Eliminación de escombreras.		
Utilización de herbicidas para evitar crecimiento excesivo.		
ACTIVIDAD	PERIODO DE EJECUCIÓN	GEOREFERENCIACIÓN
MEDIDAS DE SANEAMIENTO AMBIENTAL		
Instar a los propietarios de parcelas y solares abandonados al cuidado y limpieza de los mismos.		
Comunicación al Canal de Isabel II para la limpieza de red de alcantarillado y red de recogida de pluviales.		
Comunicación con recomendaciones a comunidades de vecinos con incorrecto mantenimiento de zonas ajardinadas.		
Comunicación con recomendaciones a empresas ubicadas en el municipio para que procedan al desbrozado, limpieza y, en su caso desinsectación, de parcelas e instalaciones.		
LUCHA ANTIVECTORIAL		
Plan de desinsectación en zonas de riesgo, revisión de los planes de desinsectación convencionales adaptándolos a los puntos de riesgo.		
Tratamiento periódico de desinsectación con insecticidas biológicos y piretroides. (modelo del certificado de tratamiento de acuerdo con la Orden 700/2010 de ROESB).		
Tratamientos fitosanitarios de arbolado y zonas verdes.		
Tratamiento de desinsectación de la red de alcantarillado y red de recogida de pluviales.		
Comunicación con recomendaciones a comunidades de vecinos y empresas sobre la necesidad de tratamientos DDD.		
ACTIVIDAD	PERIODO DE EJECUCIÓN	GEOREFERENCIACIÓN
MEDIDAS DE CONTROL EN POBLACIONES ANIMALES		
Control de poblaciones de animales domésticos: recogida de animales abandonados, control de colonias de gatos.		
Control de poblaciones de animales silvestres.		
Plan de capturas.		
Plan de medidas ambientales (eliminación de madrigueras como posibles focos de proliferación de vector, eliminación de pasos).		
Desratización. (con comunicación productos utilizados).		
OTRAS ACTIVIDADES NO RECOGIDAS		

ACTUACIONES DE FORMACIÓN, EDUCACIÓN PARA LA SALUD Y COMUNICACIÓN

Ana Martínez, María Ángeles Lopaz, Juan Carlos Diezma y Ramón Aguirre

Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Las actividades de comunicación y educación para la salud (EpS) cumplen un importante papel en la reducción de la morbi-mortalidad causada por las enfermedades transmisibles y en la mejora de la salud de las personas. La formación de los profesionales es fundamental para la reorientación de los servicios sanitarios y su capacitación adecuada para intervenir en la prevención y el control de enfermedades transmisibles.

Existe una amplia variedad de recursos y técnicas para llevar a cabo los planes de comunicación de riesgos y las actividades de educación para la salud. Todos ellos resaltan cinco puntos críticos que influyen en la efectividad de la comunicación: transmitir confianza, comunicar con prontitud, ser transparente, respetar las preocupaciones de la población y planificar con antelación.

En el año 2011 se detectó el brote comunitario de Leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid, que afecta principalmente a población residente de los municipios de Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid. Desde entonces se han puesto en marcha numerosas actividades de formación, comunicación y educación para la salud dirigidas tanto a la población general como a los profesionales sanitarios, contando para ello con el apoyo de las redes de instituciones sanitarias, educativas y municipales existentes en la zona. Se han elaborado argumentarios con preguntas y respuestas más frecuentes, folletos, carteles y notas informativas que se han dirigido a diferentes sectores de la población de la zona de riesgo. Se han realizado sesiones técnicas de actualización a

los profesionales sanitarios de la zona, se han distribuido informes epidemiológicos periódicos y se han elaborado hojas informativas para entregar a las personas usuarias de los centros sanitarios. Así mismo, se ha difundido información a través de las webs institucionales, los periódicos y revistas locales y se han colocado carteles informativos en los parques y zonas de paseo consideradas de riesgo.

Los datos más recientes nos indican que aunque está disminuyendo la incidencia en el número de casos, el brote continúa activo. Por todo ello, es necesario continuar elaborando estrategias de comunicación, formación y educación para la salud dirigidas tanto a los profesionales de la salud como a la población expuesta, teniendo en cuenta los grupos más susceptibles, con el fin de contribuir al objetivo de erradicar el brote de leishmaniasis en la Comunidad de Madrid.

Objetivos

Objetivo general

Contribuir a la erradicación del brote de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid

Objetivos específicos

- Aumentar el conocimiento y la capacidad de intervención preventiva, tanto de los profesionales sanitarios como de la población general, sobre leishmaniasis y promover su participación en la prevención de la enfermedad.

- Promover acciones de comunicación y educación para la salud para la prevención y el control del riesgo de transmisión de leishmaniasis, diferenciándolos según el tipo de población destinataria y priorizando el trabajo con las poblaciones especialmente vulnerables.

Población destinataria y ámbitos de intervención

Las intervenciones se realizan en los municipios de la zona afectada por el brote: Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid. Los principales ámbitos de actuación son el ámbito sanitario, el educativo y el comunitario.

- **Ámbito Sanitario**
 - Profesionales de atención primaria y de los hospitales públicos y privados.
 - Profesionales de salud pública y de la administración local de Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid.
 - Profesionales veterinarios clínicos y farmacéuticos de las oficinas de farmacia.
- **Ámbito Educativo**
 - Alumnado, profesorado y familias de todas las etapas educativas (incluyendo la Universidad), siendo **lugares preferentes de intervención** las escuelas infantiles y los colegios (educación infantil y primaria).
- **Ámbito comunitario**
 - Población general y entidades ciudadanas vinculadas a población general y, de forma especial, las que tengan mayor relación con poblaciones de mayor vulnerabilidad.

Actividades

- **Ámbito Sanitario**
 1. **Elaboración de un documento técnico** en el que se detallan los aspectos científico-técnicos y de salud pública de la leishmaniasis. Este documento tiene una gran importancia en Educación para la Salud (EpS) y comunicación. A partir de él se diseñan las acciones de formación de los profesionales sanitarios de la zona y se elaboran los contenidos de divulgación y comunicación del programa.
 2. **Organización de Jornadas técnicas y sesiones de salud pública**
 - **Jornada técnica dirigida a los directores de los centros de salud** de los municipios de la zona del brote, pediatras, res-

ponsables de zonas básicas y directores asistenciales para actualizar la situación epidemiológica y las medidas de control y prevención de la enfermedad.

- **Sesiones de formación continuada de reversión acreditadas en los centros de salud.** Los asistentes a la Jornada revierten en sus centros de salud la información y pautas recibidas en la misma, para ello se les proporciona el material docente necesario.
- **Coordinación técnica con el ámbito hospitalario de la zona** (Hospital de Fuenlabrada, Leganés y Getafe) para actualizar la situación epidemiológica, las medidas de control, prevención de la enfermedad y manejo clínico y terapéutico de los pacientes.
- **Coordinación técnica con Profesionales de las oficinas de Farmacia** para informar de la situación actual epidemiológica y de las medidas a llevar a cabo en las oficinas de farmacia de la zona del brote.
- **Organización de una sesión de salud pública en la D.G. de Salud Pública** para actualizar la situación epidemiológica, las medidas de control, prevención de la enfermedad y manejo clínico y terapéutico de los pacientes.

3. **Envío de información técnica y de divulgación a los veterinarios clínicos** de la zona.

4. **Publicación en la intranet Salud@ y en el Portal Salud de la Comunidad de Madrid** de documentación técnica y otros documentos de divulgación (folletos, carteles, power-point, etc.) para facilitar la tarea de los profesionales sanitarios, para ello se ha habilitado un apartado web específico sobre leishmaniasis.

- **Ámbito Educativo**
 1. **Coordinación con Consejería de Educación y Dirección Territorial Sur de Educación (DAT Sur)**
 - Reunión con la DAT Sur y celebración de reuniones informativas a los equipos directivos de escuelas infantiles, colegios e Institutos de Educación Secundaria.
 2. **En escuelas infantiles y colegios (educación infantil y primaria)**
 - Envío de una nota informativa de la Subdirección de Promoción, Prevención y Educación para la Salud equipo direc-

tivo de estos centros y a las familias del alumnado, adjuntándoles documentos de divulgación sobre la prevención de la enfermedad.

- Envío de un cartel y una presentación en “PowerPoint” tanto a escuelas infantiles como a colegios.

3. En colegios e institutos de educación secundaria, bachillerato y 1er ciclo de Formación Profesional.

- Envío de una nota informativa al equipo directivo de estos centros, firmada por el Subdirector de Promoción de la Salud y Prevención.
- Envío de una nota informativa al alumnado/familias, firmada por el Subdirector de Promoción de la Salud y Prevención.
- Envío de un cartel y una presentación en “PowerPoint”.

4. En la Universidad Carlos III (campus de Getafe)

- Envío de una nota informativa al rectorado, firmada por el Subdirector de Promoción de la Salud y Prevención.
- Envío de una nota informativa a las asociaciones de estudiantes, firmada por el Subdirector de Promoción de la Salud y Prevención.
- Envío de carteles.

• **Ámbito comunitario**

- **La coordinación por parte de los servicios territoriales de Salud Pública con los municipios de la zona es permanente** a fin de coordinar conjuntamente la evolución del brote y de las medidas y acciones preventivas a tomar.
- **Distribución de recursos de Educación para la Salud.** Se distribuyen folletos y carteles de prevención de la leishmaniasis por las instituciones de la zona, ámbito educativo e instituciones del ámbito local.
- **Divulgación de la hoja de recomendaciones para población usuaria de centros de salud.** Se elaboró una hoja con información básica acerca de la enfermedad, su mecanismo de transmisión y las medidas para su prevención, haciendo hincapié en las medidas de protección personal y en el entorno domiciliario. Se ha incluido en la biblioteca de la aplicación AP Madrid para su entrega, durante la temporada de actividad del vector, a los pacientes de la zona del brote que acudan a las consultas de

los centros de salud, especialmente a los que residen en las zonas de riesgo. Se recordará a los profesionales de AP de la zona la existencia de esta publicación divulgativa.

- **Programación de sesiones informativas.** Se divulga información preventiva en formato PowerPoint con un texto ilustrado con información básica sobre la enfermedad, su mecanismo de transmisión y las medidas básicas para su prevención, haciendo hincapié en las medidas de protección personal. Esta documentación sirve de apoyo didáctico a reuniones informativas que puedan llevarse a cabo por distintas entidades de la zona con entidades ciudadanas y de población inmigrante para informar del brote y de las medidas a tomar para que sean difundidas entre los colectivos especialmente vulnerables.
- **Divulgación de información a través del Portal Salud Ciudadanos.** Todos los recursos de educación para la salud se publicarán en el Portal Salud Ciudadanos, las páginas web de los Ayuntamientos y en aquellos lugares donde se considera fácil acceso para la población que reside en la zona afectada.
- **Divulgación de mensajes preventivos a través de las redes sociales.** Durante el periodo estacional de riesgo se utilizan las cuentas de Twitter institucional de la Comunidad de Madrid para enviar mensajes informativos de tipo preventivo a los ciudadanos y difundiendo el enlace del Portal Salud sobre leishmaniasis.
- **Divulgación de mensajes preventivos a través de medios de comunicación.** Los medios de comunicación tienen un papel fundamental en la difusión de la información. En la zona del brote existen diferentes tipos de medios locales con los que desde hace tiempo los Servicios Territoriales de Salud Pública y los municipios colaboran asiduamente. Se han preparado diferentes productos comunicativos sobre leishmaniasis para ser utilizados durante el periodo de riesgo, incluyendo entre ellos información para incorporar a las webs municipales de la zona.

Resumen y conclusiones

Las actividades de comunicación llevadas a cabo contribuyen a mejorar la capacidad técnica de intervención de la red de centros y profesionales sanitarios implicados en el control del brote y a mejorar la educación para la salud de la población susceptible. La variedad de recursos, técnicas, espacios y soportes de comunicación empleados hace posible el logro de este objetivo.

Se han elaborado notas y cartas informativas, folletos, carteles y recursos didácticos que se han dirigido a diferentes sectores de la población de la zona de riesgo a través de diferentes canales, incluido internet y las redes sociales. Especial relevancia tiene la información dirigida al conjunto de la comunidad escolar de la zona afectada por el brote.

Se han realizado sesiones técnicas de actualización a los profesionales sanitarios de la zona, se han

distribuido informes epidemiológicos actualizados y se han elaborado hojas informativas para entregar a las personas usuarias de los centros sanitarios.

Las acciones de comunicación son imprescindibles en la intervención ante este tipo de brotes de salud pública para apoyar a los profesionales, transmitir confianza, comunicar con prontitud, ser transparente y respetar las preocupaciones de la población.

LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA EN EL CONTROL DE LA LEISHMANIOSIS

Ana M^a Pérez, María Ordobás, Araceli Arce, Alicia Estirado, Laura Moratilla, Natividad García y M^a Jesús Iglesias

Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Resumen

En España la leishmaniasis se incluyó en el R.D. 2210/1995, por el que se creaba la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) y se definía una lista de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO), como enfermedad endémica de ámbito regional, dejando que las Comunidades Autónomas adaptaran la lista a las características endémicas de sus territorios, con la obligación de remitir informes anuales a la RENAVE. A partir de ellos se conoce el número de casos en cada Comunidad notificadora, pero no la comparación entre Comunidades.

Por el D. 184/1996, de 19 de diciembre, se crea la Red de Vigilancia Epidemiológica de la Comunidad de Madrid (CM) desarrollada en la Orden 9/1997 para las EDO. Ahí se enumeran las enfermedades sometidas a vigilancia en la CM, entre ellas la leishmaniasis. El protocolo de Vigilancia de la CM recoge las indicaciones de los organismos supranacionales, así como las recomendaciones y variables básicas del documento marco del Centro Nacional de Epidemiología.

A finales de 2010 se detectó un brote de leishmaniasis entre los residentes de varios municipios de la zona suroeste de la CM. Una vez identificada la situación, se intensificó la vigilancia epidemiológica de la enfermedad y se elaboró un protocolo de investigación de los casos del brote. El objetivo de la vigilancia en esta situación es describir las características epidemiológicas de los casos y de los riesgos asociados al brote comunitario para guiar, apo-

yar y evaluar las actuaciones de control que desde entonces se están realizando, así como establecer los mecanismos necesarios para conocer de forma inmediata la posible difusión del brote a otras zonas.

Introducción

Hace ya casi cuatro décadas, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) definió la vigilancia epidemiológica como un sistema dinámico que se utiliza para observar de cerca y de forma permanente, todos los aspectos de la conducta de la infección y la enfermedad y todos los factores que condicionan el fenómeno salud-enfermedad mediante la identificación de los hechos, la recolección, análisis e interpretación sistemática de los datos y la distribución de los resultados y recomendaciones necesarias ¹.

También puede definirse como un proceso sistemático y planificado de observación, medición y registro de la distribución de casos y defunciones, de la salud de la población, para conocer la magnitud y tendencias de los problemas de salud. La información recogida permitirá su utilización para la toma de decisiones de intervención para iniciar o completar las medidas de control ².

De acuerdo con el Centro para el Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC), podemos definirla como la recogida, el análisis, la interpretación y la difusión sistemática y continua de datos sanitarios, incluidos los estudios epidemiológicos relativos a las categorías de enfermedades transmisibles, en particular los relativos a la forma de propa-

gación temporal y espacial de estas enfermedades y el análisis de los factores de riesgo de contraerlas, con objeto de poder tomar las medidas de prevención y lucha pertinentes.

En España, la reforma de 1995, por la que se creó la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) ³, se planteó tanto una adecuación a los cambios estructurales del Estado, como al proceso de Unión Europea, pero sobre todo para sentar las bases que permitieran la transformación del tradicional sistema de vigilancia en un sistema de vigilancia de salud pública. Según Martínez Navarro ⁴ con este cambio se explicita de forma clara que la vigilancia pasa a ser un elemento estratégico de la salud pública, al constituir parte de su sistema de decisión y control. Además de modernizar las estructuras de vigilancia epidemiológica, se pretende conseguir una información epidemiológica homogénea y comparable.

Con la creación de la RENAVE se definieron las enfermedades sometidas a vigilancia, así como el modo de vigilancia. Se define un listado cerrado de enfermedades infecciosas comúnmente conocidas como Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO). El Centro Nacional de Epidemiología es el responsable del desarrollo de la vigilancia epidemiológica y gestión de la RENAVE, según lo estipulado en el R.D. 2210/1995, de 28 de diciembre (RCL 1996, 235), en colaboración con la Dirección General de Salud Pública y Sanidad Exterior, Plan Nacional del SIDA, Comunidades Autónomas, organizaciones nacionales e internacionales y la Unión Europea ⁵. Entre sus funciones está también colaborar y trabajar en redes internacionales, como:

- Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC).
- Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de EEUU (CDC).
- Organización Mundial de la Salud (OMS).
- Otros organismos relacionados con la salud.

Cada Comunidad Autónoma envía sus datos, de forma periódica, al Centro Nacional de Epidemiología que, a su vez, los hace llegar a las diferentes redes europeas de las que nuestro sistema de vigilancia forma parte.

En España, la vigilancia epidemiológica de la leishmaniasis comienza en 1982, cuando es incluida por primera vez en la lista de EDO; sin embargo, con el R.D. 2210/1995 la leishmaniasis se incluyó como enfermedad endémica de ámbito regional, dejando que las Comunidades Autónomas adaptaron esta lista a las características endémicas de sus territorios ⁶. El decreto sólo exige que cada Comunidad Autónoma remita a la RENAVE un informe anual. A partir de los mismos se conoce el número de casos anuales en cada Comunidad notificado-

ra, pero no permite la comparación de los casos ni las variables recogidas de los mismos. En la última década las Comunidades Autónomas que han notificado casos son: Andalucía, Aragón, Baleares, Cantabria, Castilla-León, Cataluña, Comunidad Valenciana, Extremadura, Madrid, Murcia, Navarra y La Rioja.

Próximamente está previsto un cambio en la normativa nacional con motivo de la adaptación a la legislación europea sobre vigilancia de enfermedades transmisibles, y la leishmaniasis pasará a ser una EDO nacional con un mismo protocolo de vigilancia para todas las Comunidades Autónomas.

El presente artículo tiene como objetivo exponer el sistema de vigilancia de la Leishmaniasis vigente actualmente en la Comunidad de Madrid (CM) y el refuerzo que sobre la misma ha requerido el hallazgo de un brote de la zona suroeste.

Sistemas de vigilancia: Enfermedades de declaración obligatoria en la Comunidad de Madrid

Por el D. 184/1996 ⁷, de 19 de diciembre, se crea la Red de Vigilancia Epidemiológica de la CM, que se define como el conjunto de sistemas de información que, desde una óptica poblacional y de salud pública, son imprescindibles para la vigilancia epidemiológica de la morbilidad, la mortalidad y los factores de riesgo. Se desarrolla, en materia de EDO, con la Orden 9/1997 ⁸. En ella se enumeran las enfermedades sometidas a vigilancia.

La Red de Vigilancia Epidemiológica de la CM tiene como objetivo general proporcionar información que permita conocer la carga de la enfermedad en la población y desarrollar y evaluar las medidas de prevención y control más adecuadas. Sus objetivos específicos son:

- Detectar precozmente los casos con el fin de tomar las medidas de control que eviten la propagación de la enfermedad.
- Identificar los casos y brotes epidémicos, investigar los factores de riesgo relacionados y aplicar las medidas de prevención y control adecuadas.
- Aportar información sobre las características epidemiológicas de la infección en la CM para el desarrollo y evaluación de las estrategias de prevención.

En 2007 la Asamblea de la OMS aprobó la Resolución 60.13 para el control de la leishmaniasis ⁹ y el Comité de expertos revisó el programa en marzo de 2010 para actualizar las guías de vigilancia a la luz de los avances científicos.

La leishmaniasis se vigila desde 1997 ⁸ en la CM a través del sistema EDO con un protocolo de vigilancia que recoge las indicaciones de los organismos supranacionales, así como las recomendaciones y

variables básicas del documento marco del Centro Nacional de Epidemiología ¹⁰. El protocolo contempla los aspectos siguientes ¹¹:

- Definiciones y criterios de clasificación.
- Modo y circuito de notificación.
- Recogida de datos clínicos y epidemiológicos.
- Elaboración y difusión de información.
- Procedimiento de investigación de brotes.

Definición de caso

La definición de caso de leishmaniasis de la Red de Vigilancia Epidemiológica se basa en criterios clínicos y de laboratorio.

Criterios clínicos

La definición clínica de caso incluye tres formas de presentación de la enfermedad:

- a) Leishmaniasis cutánea: el cuadro se caracteriza por una lesión granulomatosa única y excepcionalmente múltiple que, si no se produce sobreinfección bacteriana, cura espontáneamente sin otra secuela que una pequeña cicatriz. Existe una forma difusa de esta enfermedad que no cura espontáneamente y que tiende a las recaídas después del tratamiento.
- b) Leishmaniasis cutáneo-mucosa: el cuadro se caracteriza por la aparición de lesiones que pueden conducir a una destrucción extendida y desfigurante de las mucosas de la nariz, boca o garganta (leishmaniasis faríngea).
- c) Leishmaniasis visceral: este cuadro se caracteriza por un comienzo insidioso, manifestándose con fiebre, malestar general, anorexia y pérdida de peso. Más tarde aparece una marcada esplenomegalia, generalmente, blanda e indolora, hepatomegalia moderada, adenopatías en regiones inguinal y cervical, anemia y trombocitopenia.

Criterios de laboratorio

Diagnóstico de presunción:

- Las pruebas serológicas que se utilizan con mayor frecuencia son Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA), pero únicamente como diagnóstico de presunción.

Diagnóstico de confirmación:

- Demostración de la presencia del parásito (visualización, PCR – Reacción en Cadena de la Polimerasa) en aspirados o material de biopsia obtenido de:

- Los bordes de la lesión (leishmaniasis cutánea y cutánea-mucosa).
- Médula ósea, hígado, bazo o ganglios linfáticos (leishmaniasis visceral).

- Aislamiento (cultivo).

Clasificación de los casos:

- Sospechoso: enfermedad compatible con la definición clínica del caso.
- Probable: enfermedad compatible con la definición clínica del caso de Leishmaniasis visceral, cutánea-mucosa o cutánea y con serología positiva a leishmania.
- Confirmado: enfermedad compatible con la definición clínica de caso de leishmaniasis visceral, cutánea-mucosa o cutánea, que cumple con alguno de los criterios de confirmación de laboratorio.

Definición de brote

Para la definición de brote se considera dos o más casos de leishmaniasis que tengan una relación epidemiológica.

Modo y circuito de notificación

La notificación de casos debe realizarse de manera semanal con datos epidemiológicos básicos. Todos los brotes epidémicos son de declaración obligatoria urgente. Tanto los casos sospechosos de leishmaniasis que cumplan la definición de caso como los brotes deberán ser notificados a la Red de Vigilancia Epidemiológica. En ambos casos la notificación se realizará al Servicio de Salud Pública de Área correspondiente o, en su defecto, al Servicio de Epidemiología. La notificación urgente de brotes los días laborales a partir de las 15 horas, así como los fines de semana y festivos se realizará al Sistema de Alerta Rápida en Salud Pública.

Actualmente las nuevas tecnologías de la información y la accesibilidad a los registros han dado lugar a la mejora de la calidad y exhaustividad de los datos que se notifican. Ya está consolidado el proceso de captación automática de los casos de EDO desde la historia clínica de Atención Primaria. Los casos captados automáticamente son revisados por los epidemiólogos, que validan su incorporación al sistema si cumplen los criterios de definición de caso de la Red de Vigilancia. La notificación en los centros de atención especializada se realiza a través de los circuitos tradicionales, centralizando la notificación dentro de los hospitales en los Servicios de Medicina Preventiva, que recogen y depuran la información y la remiten semanalmente a las Secciones de Epidemiología de los Servicios de Salud Pública del Área correspondiente.

Es una enfermedad para la que existe una importante subnotificación. Un reciente artículo¹² la sitúa

alrededor del 50% en todo el Estado. En este estudio se analizan y comparan los datos de la RENAVE y del Conjunto Mínimo Básico de Datos al Alta Hospitalaria (CMBD) para el período 2000-2010.

Recogida de datos (encuesta epidemiológica)

Ante cada caso que se detecta se cumplimenta la ficha básica de recogida de datos que comprende datos sociodemográficos, clínicos, de laboratorio y factores de riesgo (Anexo I).

Elaboración y difusión de información

Toda la información recogida y analizada permite la elaboración de informes periódicos de la situación epidemiológica de la leishmaniasis en la CM o en los ámbitos territoriales que se requieran.

Procedimiento de investigación de brote: la investigación del brote de la zona suroeste de la Comunidad de Madrid

A finales de 2010 se detectó un brote de leishmaniasis, entre los residentes de varios municipios cercanos en la zona suroeste de la CM. Una vez identificada la situación se programaron diferentes acciones para intensificar la vigilancia epidemiológica de la enfermedad. El objetivo de la vigilancia en esta situación es describir las características epidemiológicas de los casos y de los riesgos asociados al brote comunitario para guiar, apoyar y evaluar las actuaciones de control que desde entonces se están realizando, así como establecer los mecanismos necesarios para conocer de forma inmediata la posible difusión del brote a otras zonas, especialmente a municipios colindantes. Se ha elaborado un protocolo de investigación de los casos del brote de leishmaniasis que se desarrolla a continuación:

Definición de caso asociado al brote

Se ha establecido la siguiente definición de caso de leishmaniasis asociado al brote: *persona enferma de leishmaniasis que cumple los criterios clínicos y de laboratorio definidos por la Red de Vigilancia Epidemiológica, con domicilio de residencia en los municipios de la zona suroeste de la Comunidad de Madrid: Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid, y con fecha de inicio de síntomas comprendida entre el 1 de julio de 2009 y la actualidad.* La fecha de comienzo del brote se ha establecido en el 1 de julio de 2009 porque a partir de esa fecha se inició una acumulación de casos en el territorio epidémico; en los primeros seis meses de 2009 no se notificó ningún caso en esta zona. El brote sigue abierto, no existe fecha final en el momento de redactar el presente artículo.

Encuesta epidemiológica

Ante cada caso que se notifica se realiza, además del cuestionario básico, una encuesta epidemiológica específica para la investigación del brote, donde se recogen los datos básicos de la declaración obligatoria y datos relacionados con el domicilio, entorno laboral y hábitos de ocio (Anexo II).

Confirmación de los casos

Las determinaciones de laboratorio se realizan en los hospitales de referencia de cada persona enferma y en el Centro Nacional de Microbiología en el que, además, se realiza la tipificación del patógeno. Los criterios de clasificación son los correspondientes al protocolo de vigilancia vigente.

Análisis espacial

Cada caso que se notifica se estudia mediante Sistemas de Información Geográfica (SIG) a fin de detectar pautas espaciales en la presentación de los casos. Este análisis permite estudiar de forma conjunta la presentación espacial de los casos con otros elementos clave del ciclo de la enfermedad: vectores y reservorios de leishmaniasis, para así poder identificar las zonas de mayor riesgo y los factores implicados en la transmisión.

Acciones para garantizar la calidad y exhaustividad de los datos

Ante esta excepcional situación epidemiológica se han implantado diferentes acciones para intensificar la vigilancia de la enfermedad y específicamente del brote:

- Búsqueda retrospectiva de casos a través de diferentes fuentes de información para asegurar que la infranotificación tradicional descrita para esta enfermedad no constituye una fuente de distorsión de los resultados obtenidos en la investigación del brote.
- Refuerzo de la coordinación con los centros asistenciales de la zona, tanto de Atención Primaria como de Atención Especializada.
- Para toda la CM, incorporación de la revisión de todas las determinaciones diagnósticas realizadas en el Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III, centro de referencia nacional para el diagnóstico de la enfermedad, como fuente de notificación EDO.
- Para toda la CM, incorporación de la revisión de los ingresos recogidos en el Registro del CMBD como fuente complementaria a la notificación a las EDO.

Seguimiento de los casos detectados en otras zonas de la Región

Desde la detección del brote se analizan los casos notificados en toda la CM y se comparan las ca-

racterísticas epidemiológicas de los casos asociados al brote con los casos esporádicos detectados en el resto de la Comunidad, para poder delimitar adecuadamente el territorio epidémico y detectar de forma precoz la extensión a otras zonas.

Informes de seguimiento

Se elaboran indicadores epidemiológicos para monitorizar la evolución del patrón de presentación de los casos y de la extensión temporo-espacial del brote. Además de referidos a los casos asociados al brote, también del resto de casos notificados en la CM. Y se elaboran y difunden informes periódicos sobre la situación epidemiológica.

También se han realizado otros estudios e informes como complemento a la vigilancia a través de las EDO. Se han realizado otros estudios de vigilancia, como por ejemplo los realizados mediante la utilización de los ingresos recogidos en el Registro

del CMBD o la morbilidad por leishmaniasis en las personas diagnosticadas de infección por VIH residentes en el territorio epidémico del brote.

Conclusiones

Los criterios utilizados para la clasificación son los criterios estandarizados por el Centro Nacional de Epidemiología y los del ECDC para toda Europa.

Se ha reforzado de forma muy importante la Vigilancia Epidemiológica de esta enfermedad en toda la CM, pero fundamentalmente en la zona del brote.

Se han analizado diferentes fuentes para estudiar la incidencia de la enfermedad.

Los datos obtenidos son consistentes, por el refuerzo de la vigilancia y el estudio contrastado de las diferentes fuentes.

No es posible la comparación con otras CCAA limítrofes por no contar con información al respecto en la RENAVE.

BIBLIOGRAFÍA

- Tello O, Amela C, Pachón I, Martínez JF. Vigilancia en salud pública. En: Martínez F, Antó JM, Castellanos PL, Gili M, Morset P y Navarro V, eds. Salud pública. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 1997. pp. 435-463.
- Ricardo Batista Moliner. El médico de familia en la vigilancia de salud. Rev Cubana Med Gen Integr v.13 n.1 Ciudad de La Habana ene.-feb. 1997
- Boletín Oficial del Estado. R.D. 2210/1995 por el que se crea la red nacional de Vigilancia Epidemiológica. BOE núm. 21 de 24/01/1996. Disponible en: <https://www.boe.es/boe/dias/1996/01/24/pdfs/A02153-02158.pdf>
- Ferrán Martínez Navarro. De la información a la acción: la vigilancia de la salud pública. Rev. Esp. Salud Pública v.74 monográfico Madrid 2000
- Boletín Oficial del Estado. Orden de 27 de diciembre de 2001 sobre creación de centros de el Instituto de Salud Carlos III. BOE núm 10 de 11 de enero de 2002. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-el-instituto/fd-organizacion/fd-estructura-directiva/fd-subdireccion-general-servicios-aplicados-formacion-investigacion/fd-centros-unidades/fd-centro-nacional-de-epidemiologia/funciones-cne.shtml>
- Amela C, Suárez B, Isidoro B, et al. Evaluación del riesgo de transmisión de *Leishmania infantum* en España. Informe de situación Octubre 2012. Centro de coordinación de alertas y emergencias sanitarias. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/analisisituacion/doc/leishmania.pdf>
- Boletín Oficial de la Comunidad de Madrid. D. 184/1996, de 19 de diciembre por el que se crea la Red de Vigilancia Epidemiológica de la Comunidad de Madrid. BOCM núm 2 de 3/ enero/1997. Disponible en: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application/pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1202740885322&ssbinary=true>
- Boletín Oficial de la Comunidad de Madrid. Orden 9/1997, de 15 de enero, de la Consejería de Sanidad y Servicios Sociales, para el desarrollo del D. 184/1996, de 19 de diciembre, en lo que se refiere a las Enfermedades de Declaración Obligatoria, a las Situaciones Epidémicas y Brotes, y al Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) e Infección Por Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). BOCM núm 18 de 22/01/1997. Disponible: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application/pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1202740885412&ssbinary=true>
- World Health Organization. Control of the Leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, 2010 WHO technical report series; n° 949 Geneve.
- Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Protocolos de enfermedades de declaración obligatoria. Madrid, 2013.
- Manual de Notificación Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria. Madrid: Consejería de Sanidad y Consumo; 2006. Comunidad de Madrid. 2006. Documentos Técnicos de Salud Pública n° 69. Disponible en: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application/pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1202740885300&ssbinary=true>
- Suárez Rodríguez B, Isidoro Fernández B, Santos Sanz S et al. Situación epidemiológica y de los factores de riesgo de transmisión de *Leishmania Infantum* en España. Rev Esp Salud Pública 2012;86:555-564

ANEXO 1

FICHA BÁSICA DE RECOGIDA DE INFORMACIÓN



**Dirección General de Salud
Pública y Alimentación**
Comunidad de Madrid

Formulario de Notificación de caso de Leishmaniasis

Datos del enfermo

Apellidos:..... Nombre:

Domicilio:..... Nº:..... Piso:..... Teléfono:.....

Municipio:..... Código postal:..... Área:..... Distrito:..... Zona Básica:.....

Sexo: Hombre Mujer Fecha de nacimiento:...../...../..... Edad:..... Meses Años

País de nacimiento: España Otros Especificar:..... Año de llegada a España:

Pertenencia a grupos sociales desfavorecidos (especificar):

Otros datos epidemiológicos

Factores de riesgo:

Enf. Inmunodepresora: Si No Tipo:..... Tratamiento inmunosupresor Si No

UDVP: Si No Ex-UDVP Transfusión: Si No Hace más de 2 años

Trasplante: Si No Alcoholismo: Si No

Otros factores de riesgo: Especificar*

Fecha de inicio de los síntomas:..... / /

Tipo de Leishmaniasis que padece:

Visceral

Cutáneo

Cutáneo-mucosa

Sin especificar

Localizaciones atípicas Especificar:

Ingreso Hospitalario:

Si No Fecha de ingreso:..... / / Fecha de alta:..... / /

*Se considerará en "Otros factores de riesgo" los relacionados en el cuadro adjunto:

Existencia de:	Casa	Trabajo	Fin de semana	Vacaciones	Actividad. Ocio al aire libre	Vecindad
Perros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Perros enfermos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Hábitats de mosquitos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Explotaciones ganaderas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Escombreras/Vertederos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Viaje a zonas endémicas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				

Datos de laboratorio

Demostración del parásito (visualización, PCR), Origen

Cultivo. Origen.....

Serología, Origen

(En origen recoger la técnica (biopsia o aspirado) y especificar de dónde se ha tomado la muestra)

Clasificación de caso

Sospechoso Probable Confirmado

Datos del notificador

Nombre:.....

Centro de Trabajo:.....

Municipio:..... Área..... Teléfono:..... Fecha de declaración...../...../.....

ANEXO 2

ENCUESTA PARA UN CASO DE LEISHMANIASIS

Buenos días, quería hablar con _____.
Soy un/a médico de la Consejería de Sanidad, la Dr/a. _____. Sabemos que estuvo ingresado en el mes _____ en el hospital _____. ¿Cómo se encuentra?. ¿Qué le explicaron de esta enfermedad?.

**Darle la siguiente información de la enfermedad, con más o menos detalle según el conocimiento que tenga de la misma.

Esta enfermedad (leishmaniasis) se transmite por un tipo de mosquito (flebotomo) que, generalmente, ha picado antes a un perro enfermo. El mosquito sólo vive en las épocas de calor (mayo a octubre) y sólo pica por la noche, a partir de anochecer hasta el amanecer.

Necesitamos su colaboración porque estamos haciendo una investigación sobre esta enfermedad para que podamos prevenir futuros casos. Además de los síntomas de la enfermedad, necesitamos información sobre las actividades que realiza al aire libre, si tiene animales de compañía, sobre su vivienda, ..., con el objetivo de conocer si en su entorno ha podido estar circulando este tipo de mosquito y si hay perros.

¿Puede atendernos ahora o prefiere que le llamemos en otro momento?, la conversación podría durar unos 10 o 15 minutos.

DATOS DEL ENFERMO

**Confirmar que el domicilio que consta es el que tenía durante la enfermedad y asegurar el piso y el año de llegada a España en extranjeros si no constara.

Número SIVE _____

Apellidos: _____

Nombre: _____

Domicilio: _____ Nº: ____ Piso: ____

Teléfono: _____ Municipio: _____

Sexo: Hombre Mujer Fecha de nacimiento: __/__/__ Edad: ____ Meses Años

País de nacimiento: España Otros, especificar: _____ Año de llegada a España: ____

** Sólo en las formas cutáneas, preguntar por las lesiones.

Lesión cutánea: Única Múltiple: Especificar localización: _____

¿Desde que le dieron el alta o acabó el tratamiento, ha tenido que volver al médico por esta enfermedad?

Sí. Especificar: _____

No

¿Además, qué otras enfermedades importantes tiene?

** Se trata de recoger los antecedentes personales, especialmente en las cutáneas.

- Enfermedad inmunodepresora:
 - Sí, especificar: _____
 - No
 - Desconocido
- Tratamiento inmunosupresor
 - Sí
 - No
 - Desconocido
- UDVP
 - Sí
 - No
 - Ex UDVP
 - Desconocido
- Otras patologías previas: _____
- Transfusión
 - Sí, ¿hace más de 2 años?
 - No
 - Desconocido
- Trasplante
 - sí
 - No
 - Desconocido
- Alcoholismo
 - Sí
 - No
 - Desconocido

FACTORES DE RIESGO AMBIENTALES (Referidos al periodo comprendido entre mayo y octubre)

1) RESERVORIO

1.1.) ¿Tiene **perro**? : Sí No ⇒ Pasar al apartado 1.2.

En caso de que tenga perro, preguntar:

• ¿Duerme el perro al aire libre?:

- Nunca
- Casi nunca
- Esporádicamente
- Habitualmente

• ¿Utiliza insecticidas externos (repelentes) para el perro?:

- Sí, especificar el tipo: Collar Pipeta Otros
- No

• ¿Le ha hecho su veterinario la prueba de las leishmaniasis al perro?:

- Sí
- No
- Desconocido

• ¿Está o ha estado enfermo de leishmaniasis?:

- Sí, ¿está o ha estado en tratamiento para esta enfermedad? Sí No
- No
- Desconocido

1.2.) ¿Tiene **gato u otras mascotas**?:

- Sí. Especificar: _____
- No

2) ACTIVIDADES DE OCIO AL AIRE LIBRE

Como le dijimos, el mosquito no actúa durante el día, sino a partir del anochecer y hasta el amanecer, y en los meses de buen tiempo. Por ello necesitamos que nos diga las actividades que suele realizar al aire libre en estas horas en los meses de mayo a octubre.

- ¿Suele salir a estas horas?

- Sí. Especificar _____
- No. ⇒ Pasar al apartado 3

- Paseos por **parques y jardines** al amanecer o a partir del anochecer?:
 - No
 - Sí, ¿cuántas veces a la semana? _____
 - Zona: _____
- **Terraza de un bar, visitas**, etc.
 - No
 - Sí, ¿cuántas veces a la semana? _____
 - Zona: _____
- **Otros** (especificar): _____
 - No
 - Sí, ¿cuántas veces a la semana? _____
 - Dirección: _____
- ¿En estas actividades al aire libre, hay zonas con muchos **mosquitos**?:
 - Sí, especificar: _____
 - No
 - Desconocido
- ¿Hay **explotaciones ganaderas**?:
 - Sí, especificar: _____
 - No
 - Desconocido
- ¿Hay **restos de poda o de escombros**?:
 - Sí, especificar: _____
 - No
 - Desconocido

** Si pasea, preguntar específicamente por las zonas siguientes, que son las habituales de paseo en Fuenlabrada.

- Zona 1: **Bosque Sur**
 - No
 - Sí
 - Tipo de actividad que realiza: _____
 - Sedentaria*
 - No sedentaria*
- Zona 2: **Vereda del Naranja a la estación de la Serna** (camino que linda con Bosque Sur)
 - No
 - Sí
 - Horario en que recorre el itinerario: _____
 - Tipo de actividad que realiza: _____
 - Sedentaria*
 - No sedentaria*
- Zona 3: **Estación de la Serna**
 - No
 - Sí
 - Horario en que recorre el itinerario: _____
 - Tipo de actividad que realiza: _____
 - Sedentaria*
 - No sedentaria*

- Zona 4: **Esquina de la Avanzada y carril bici hacia las piscinas municipales**
 - No
 - Sí
 - Horario en que recorre el itinerario:
 - Al amanecer o a partir del anochecer
 - En otros horarios
 - Tipo de actividad que realiza: _____
 - Sedentaria*
 - No sedentaria*
- Zona 5: **Hipercor o Arroyo Sur**
 - No
 - Sí
 - Horario en que recorre el itinerario:
 - Al amanecer o a partir del anochecer
 - En otros horarios
 - Tipo de actividad que realiza: _____
 - Sedentaria*
 - No sedentaria*
- Zona 6: **Parque Polvoranca** (excluidos Bosque Sur y Arroyo Sur)
 - No
 - Sí
 - Horario en que recorre el itinerario:
 - Al amanecer o a partir del anochecer
 - En otros horarios
 - Tipo de actividad que realiza: _____
 - Sedentaria*
 - No sedentaria*
- Zona 7: **Parque de La Paz**
 - No
 - Sí
 - Horario en que recorre el itinerario:
 - Al amanecer o a partir del anochecer
 - En otros horarios
 - Tipo de actividad que realiza: _____
 - Sedentaria*
 - No sedentaria*
- Zona 6: **Parque de la Solidaridad**
 - No
 - Sí
 - Horario en que recorre el itinerario:
 - Al amanecer o a partir del anochecer
 - En otros horarios
 - Tipo de actividad que realiza: _____
 - Sedentaria*
 - No sedentaria*
- Cuando realiza estos paseos, ¿se pone algún producto **repelente de mosquitos**?
 - No
 - Sí

3) ANTECEDENTES DE VIAJE

Entre los meses de mayo y octubre, ¿salió de viaje tanto dentro como fuera de España?

Sí ⇒ Preguntar por el lugar y fecha de los viajes.

No ⇒ Pasar al apartado 4

– Viaje 1:

• Lugar _____

• Fecha: entre __/__/__ y __/__/__

• Si no se conoce la fecha exacta, recoger una fecha aproximada: _____

– Viaje 2:

• Lugar _____

• Fecha: entre __/__/__ y __/__/__

• Si no se conoce la fecha exacta, recoger una fecha aproximada: _____

– Viaje 3:

• Lugar _____

• Fecha: entre __/__/__ y __/__/__

• Si no se conoce la fecha exacta, recoger una fecha aproximada: _____

4) TRABAJO

Ahora le vamos a hacer unas preguntas sobre algunos aspectos de su trabajo.

– Trabajo

Sí

No ⇒ Pasar al apartado 5.

– Trabajo al aire libre:

Sí

No

– Trabajo nocturno:

Sí

No

– Ocupación: _____

– Dirección: _____ Municipio: _____

Necesitamos identificar si en el recorrido entre el domicilio y el trabajo permanece esperando en algún lugar al aire libre en los horarios que estamos estudiando (a partir del anochecer y hasta el amanecer)

Sí, ¿dónde lo espera? _____

No

** Hacer las preguntas siguientes sólo si trabaja al aire libre o en horario nocturno

Necesitamos conocer si en el entorno del trabajo:

– ¿Hay **perros**?: Sí No Desconocido

– ¿Hay zonas con muchos **mosquitos**?: Sí No Desconocido

– ¿Hay **explotaciones ganaderas**?: Sí No Desconocido

– ¿Hay **restos de poda o de escombros**?: Sí No Desconocido

5) VIVIENDA HABITUAL

– Tipo de vivienda:

Casa baja o chalet

Bloque de casas. Indicar la planta: _____

– ¿Tiene **jardín o terraza** en su vivienda?

Sí. Especificar: Jardín propio Jardín comunitario Terraza (no cubierta)

No

En caso afirmativo, preguntar:

¿Realiza actividades sentado a partir del anochecer en el jardín o terraza?:

Sí, especificar: _____

No

– ¿Tiene mosquiteras en las ventanas?

Sí, ¿es de **mall** especialmente fina?: Sí No

No

(Las preguntas sobre dormir con la ventana abierta y el uso de sistemas de ventilación se refieren a las épocas de calor)

– Tiene en la habitación **aire acondicionado o ventilador**?. En caso de tenerlo, ¿duerme por la noche con el aparato encendido?:

Aire acondicionado: Sí No

Nunca

Casi nunca

Esporádicamente

Habitualmente

Ventilador: Sí No

Nunca

Casi nunca

Esporádicamente

Habitualmente

– Utiliza **insecticidas** en la habitación?

Nunca

Casi nunca

Esporádicamente

Habitualmente

En caso de que utilice insecticidas, ¿de qué tipo son?

Enchufe Spray

- ¿Duerme con la **ventana abierta**?

Nunca

Casi nunca

Esporádicamente

Habitualmente

**Las siguientes preguntas, sobre riesgos en la proximidad de la casa, se refieren a una distancia aproximada de 500 metros.

– ¿Hay zonas con muchos **mosquitos** próximas a su casa?:

Sí No Desconocido

- ¿Hay **restos de poda o de escombros** próximos a su casa?:

Sí No Desconocido

- ¿Tiene otra casa en la que pase temporadas (vacaciones, fines de semana)

No

Sí. Municipio: _____ Provincia: _____

Tipo de vivienda:

Casa baja o chalet

Bloque de casas. Indicar la planta: _____

Muchas gracias por su colaboración.

SITUACIÓN DE LA LEISHMANIASIS EN LA COMUNIDAD DE MADRID

María Ordobás, Araceli Arce, Alicia Estirado, Laura Moratilla, Natividad García, Ana M^a Pérez, Elisa Gil, Manuel José Velasco y Emiliano Aranguez
Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Resumen

En la primera década del siglo XXI, el número de casos anuales de leishmaniasis notificados en la Comunidad de Madrid (CM), se mostraba estable, el inusual incremento de casos en el último trimestre de 2010 y la investigación de los mismos permitió detectar un brote de leishmaniasis en la zona suroeste de la Región. Se comparan las principales características de los casos de leishmaniasis visceral asociados al brote con los esporádicos notificados en el resto de la CM en el mismo periodo. La leishmaniasis visceral fue más frecuente en hombres (70% de los casos) tanto en los asociados al brote como en los esporádicos. En ambos grupos la distribución por edad fue similar. Se han encontrado diferencias en cuanto al país de nacimiento, en los casos asociados al brote se observa un mayor porcentaje de personas de origen subsahariano. También en el porcentaje de casos con factores de riesgo intrínsecos, que es menor en los casos asociados al brote. Se encontró mayor proporción de casos con presentación atípica entre los asociados al brote. En cuanto al diagnóstico el porcentaje de casos confirmados es similar en ambos grupos. Pero la serología y la biopsia se utilizan con mayor frecuencia como método de confirmación de los casos asociados al brote. La demora en la notificación al sistema de vigilancia fue menor en los casos asociados al brote que en los esporádicos. La incidencia media anual de casos asociados al brote fue 18,52 veces mayor que la de casos esporádicos. Parecida relación se establece para las incidencias

específicas por edad y sexo. El análisis comparativo de los casos de leishmaniasis notificados en la CM, según asociación al brote comunitario de la zona suroeste o no, aporta información para delimitar adecuadamente el territorio epidémico del brote y detectar de forma precoz su posible extensión a otras zonas.

Introducción

La leishmaniasis es endémica en 98 países o territorios y hay más de 350 millones de personas en riesgo. Las cifras publicadas indican una incidencia estimada de 2 millones de casos nuevos al año (0,5 millones de leishmaniasis visceral y 1,5 millones de leishmaniasis cutánea). Se calcula que la leishmaniasis visceral causa más de 50.000 muertes anuales¹.

Este grupo de enfermedades está muy difundido y hay transmisión al ser humano en los cinco continentes, pero la carga de morbilidad humana se concentra sobre todo en algunos grandes focos. Se ha calculado que más del 90% de la carga de leishmaniasis visceral se concentra en Bangladesh, Brasil, Etiopía, India, Nepal y Sudán².

España forma parte del foco de la cuenca mediterránea. Entre 1996 y 2001 la incidencia media anual notificada en todo el Estado estuvo alrededor de 0,45 casos por 100.000 habitantes. En este periodo la incidencia más elevada se registró en Baleares con tasas de 4,72 y 4,59 casos por 100.000 habitantes en 2005 y 2006³.

La incidencia de la leishmaniasis puede ver-

se influida por cambios ambientales, entre otros, la urbanización, la integración del ciclo de transmisión en el hábitat humano y la incursión de las explotaciones agrícolas y los asentamientos en las zonas boscosas. También es sensible a las condiciones climáticas y los cambios en las precipitaciones, la temperatura y la humedad influyen en gran medida en la enfermedad. Los cambios en estos parámetros pueden tener efectos importantes en los vectores y los reservorios animales al alterar su distribución e influir en las tasas de supervivencia y en el tamaño de la población ².

En 1985 se asoció por primera vez la leishmaniasis al VIH/sida ⁴. La cuenca mediterránea, incluida España, destacó por un elevado número de casos de coinfección ^{5,6}. La leishmaniasis visceral es la forma clínica más frecuentemente asociada con el VIH/sida. La leishmaniasis pasó de ser una enfermedad prácticamente infantil a afectar también a adultos sobre todo inmunodeprimidos. Y la distribución por edad pasó a tener un porcentaje bastante alto de infectados entre 31 y 50 años. Ese período coincide con el auge, en los años noventa, de casos en personas usuarias de drogas por vía parenteral (UDVP). En el suroeste de Europa, los UDVP representaron el mayor porcentaje de los casos de coinfección, muy por encima del resto de grupos de transmisión del VIH ^{3,7}. A este cambio de patrón epidemiológico de la leishmaniasis, además de la infección por VIH/sida, contribuyeron el aumento de la supervivencia en enfermedades crónicas, los nuevos tratamientos inmunosupresores, el incremento en el número de receptores de trasplantes, etc.

Desde la Vigilancia Epidemiológica en la Comunidad de Madrid (CM), entre 1991 y 1996 se realizó la búsqueda activa de casos de leishmaniasis a partir de diferentes fuentes de información. Se encontraron 464 casos confirmados de leishmaniasis, que representaron una incidencia media anual de al menos 1,5 casos por 100.000 habitantes, de ellos el 59,3% presentaron enfermedad inmunosupresora (sida) y el 43,5% el antecedente de UDVP ⁸.

En la primera década del siglo XXI el número de casos anuales de leishmaniasis notificados en la CM se mostraba estable. El inusual incremento de casos en el último trimestre de 2010 y la investigación de los mismos permitió detectar que desde julio de 2009 hasta la fecha actual se está produciendo un brote de leishmaniasis en la zona suroeste de la Región.

Desde la detección del brote, en el análisis continuo de los casos de leishmaniasis notificados en la CM se incluye la comparación de las características epidemiológicas de los casos asociados al brote con el resto de casos notificados en la región. El objetivo de este estudio es comparar los casos de leishmaniasis visceral asociados al brote con los esporádicos notificados en la CM en el mismo período.

Metodología

Estudio descriptivo de los casos de leishmaniasis visceral residentes en la CM, notificados al Registro de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO), con inicio de síntomas entre el 1 julio de 2009 y el 30 de junio de 2014. Para la inclusión en las EDO como caso se siguen los criterios establecidos en el manual de notificación ⁹. Se han clasificado como viscerales los casos con presentación atípica y cutáneo-mucosa. El cierre de datos para el estudio se realizó a 1 de septiembre 2014.

Se han analizado las siguientes variables: presentación epidemiológica (esporádico o asociado al brote de la zona suroeste de la CM), temporada epidemiológica según el mes de inicio de síntomas (de 1 de julio de un año al 30 de junio del año siguiente), características clínicas, sexo, edad, país de origen, factores de riesgo intrínsecos, factores de riesgo ambientales, ingreso hospitalario, confirmación microbiológica y determinaciones mediante las que se ha realizado ésta y demora en la notificación (estimada como la diferencia entre la fecha de notificación y la fecha del inicio de los síntomas).

En el período analizado todos los casos viscerales asociados lo están al brote de la zona suroeste, el resto de casos notificados se han clasificado como esporádicos.

Se han calculado tasas de incidencia por 100.000 habitantes y razones de tasas. Se utiliza como denominador la población recogida en el padrón continuo publicado por el Instituto de Estadística de la Comunidad de Madrid. Los intervalos de confianza se han establecido a un nivel del 95%. Se comparan las características de los casos asociados al brote con las del resto de casos la CM mediante el test de χ^2 al 95% de confianza.

Resultados

El número de casos anuales de leishmaniasis notificados en la CM se muestra estable hasta 2010. El incremento de casos producido desde entonces se debe a los casos asociados al brote del suroeste, ya que en el resto de la Región el número de casos anuales sólo presenta pequeñas oscilaciones (figura 1). Durante las 5 temporadas epidemiológicas analizadas, desde julio de 2009 hasta junio de 2014, se han notificado en la CM 757 casos de leishmaniasis, 584 asociados al brote de la zona suroeste y 173 casos esporádicos, distribuidos en el resto de la CM. De ellos 346 son leishmaniasis viscerales, 222 casos asociados al brote del suroeste y 124 casos esporádicos del resto de la CM (tabla 1).

En la figura 2 se presenta la distribución de los casos de leishmaniasis visceral notificados en la CM de julio 2009 a junio 2014.

En la tabla 2 se presentan las características de los 346 casos analizados. La leishmaniasis visceral

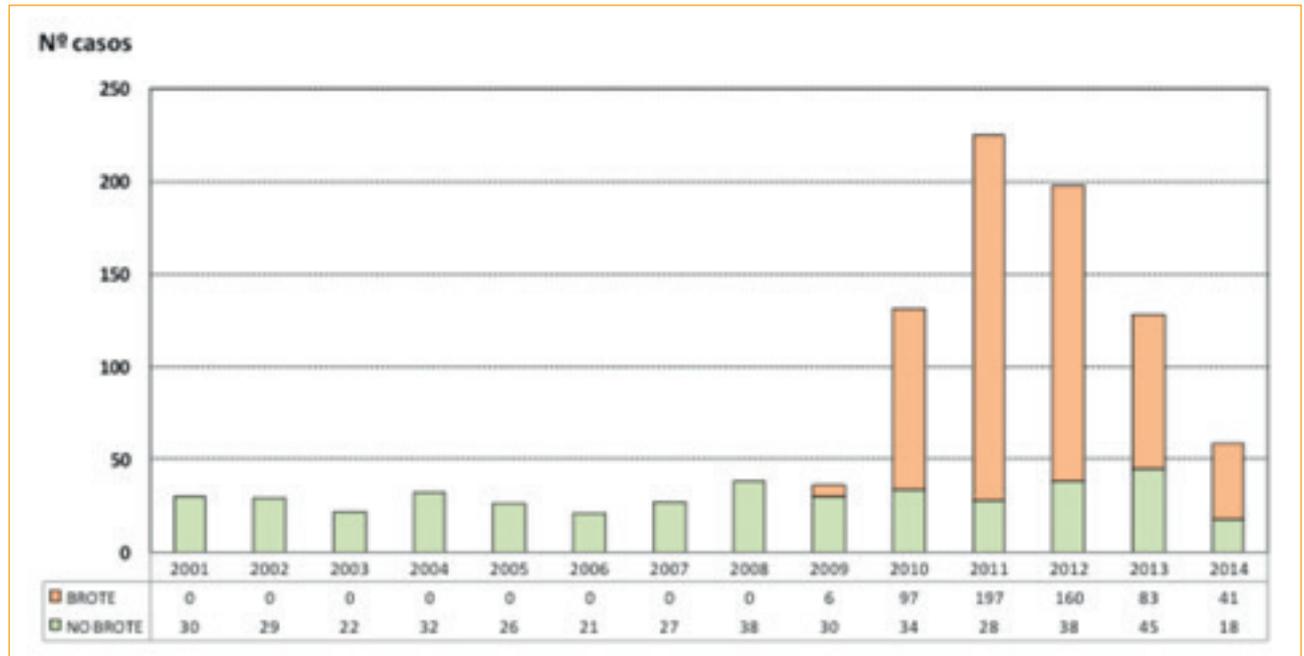


Figura 1. Evolución anual de los casos de leishmaniasis según año de inicio de síntomas y asociación al brote de la zona suroeste. Comunidad de Madrid de 2001 a 2014 (2014 hasta 30 junio).

Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO)*.

Tabla 1

DISTRIBUCIÓN DE LOS CASOS DE LEISHMANIASIS SEGÚN TEMPORADA DE INICIO DE SÍNTOMAS, FORMA DE PRESENTACIÓN Y ASOCIACIÓN AL BROTE DE LA ZONA SUROESTE. COMUNIDAD DE MADRID, JULIO 2009 - JUNIO 2014

	TEMPORADA EPIDEMIOLÓGICA										Total	
	1		2		3		4		5			
	(Julio 2009 a junio 2010)		(Julio 2010 a junio 2011)		(Julio 2011 a junio 2012)		(Julio 2012 a junio 2013)		(Julio 2013 a junio 2014)		N	%
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
BROTE COMUNITARIO	27		173		206		91		87		584	
Formas viscerales	15	55,6	60	34,7	65	31,6	39	42,9	43	49,4	222	38,0
Formas cutáneas	12	44,4	113	65,3	141	68,4	52	57,1	44	50,6	362	62,0
ESPORÁDICOS	27		35		34		41		36		173	
Formas viscerales	18	66,7	25	71,4	22	64,7	31	75,6	28	77,8	124	71,7
Formas cutáneas	9	33,3	10	28,6	12	35,3	10	24,4	8	22,2	49	28,3
TOTAL	54		208		240		132		123		757	

Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO)*.

fue más frecuente en hombres, donde se han dado alrededor del 70% de los casos, tanto en los asociados al brote como en los esporádicos. Respecto a la edad, la media en años y la distribución por grupos de edad de los casos fue similar en ambos grupos. Sin embargo, se han encontrado diferencias en cuanto al país de nacimiento, en los casos asociados al brote se observa un mayor porcentaje de personas de origen subsahariano. También se han encontrado diferencias en el porcentaje de casos con factores de riesgo intrínsecos, que es menor en

los casos asociados al brote. Así mismo, se encontró una mayor proporción de casos con presentación atípica entre los asociados al brote. El porcentaje de casos que requirió ingreso hospitalario fue similar en ambos grupos. En cuanto al diagnóstico, el porcentaje de casos confirmados es similar en ambos grupos, pero la serología y la biopsia se utilizan con mayor frecuencia como método de confirmación de los casos asociados al brote. Hay diferencias en la demora en la notificación al sistema de vigilancia, desde la fecha de inicio de síntomas tuvo una media

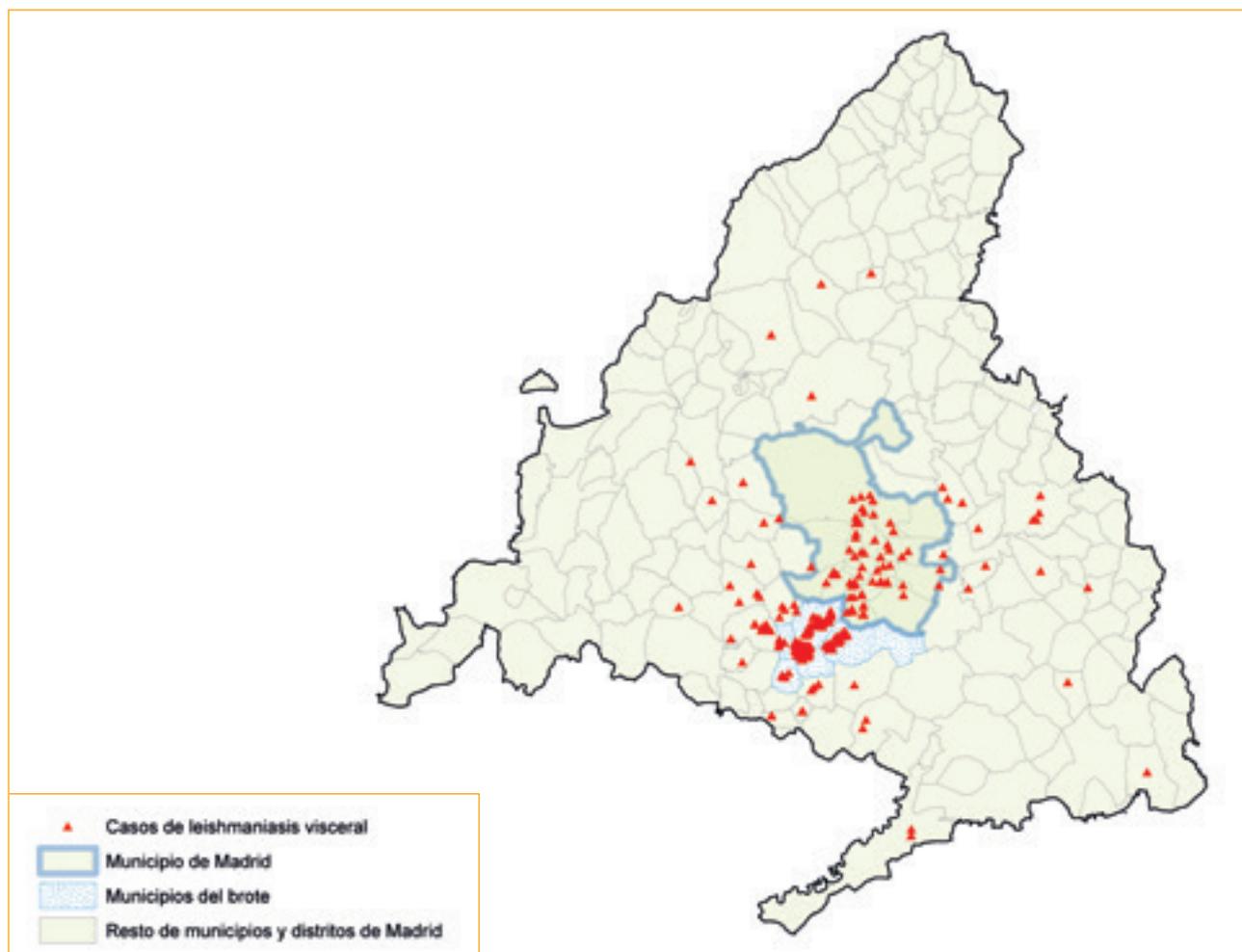


Figura 2. Distribución de los casos de leishmaniasis visceral según ubicación de su domicilio. Comunidad de Madrid, Julio 2009- junio 2014.

Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO)*.

de 82,5 días en los casos asociados al brote frente a 187,7 días en los esporádicos, esta cifra engloba factores atribuibles al enfermo (tiempo en consultar al médico) y al sistema sanitario (tiempo en diagnosticar y notificar).

No se apreciaron diferencias significativas en los factores de riesgo ambientales relacionados con el entorno de los casos: presencia de perros, hábitats de mosquitos, explotaciones ganaderas y escombreras.

La incidencia media anual de casos asociados al brote en el territorio epidémico ha sido 18,52 veces mayor que la de casos esporádicos en el resto de la CM, 7,77 por 100.000 habitantes frente a 0,42 por 100.000 habitantes. Parecida relación se establece para las incidencias específicas por edad y sexo, sin encontrar diferencias significativas en las razones de incidencia por sexo ni por grupo de edad. Hay que resaltar que en los menores de 2 años la incidencia media anual de casos asociados al brote en el territorio epidémico ha sido 27,14 veces mayor que la de casos esporádicos en el resto de la CM, 29,85 por

100.000 habitantes frente a 1,10 por 100.000 habitantes (tabla 3).

Discusión y conclusiones

La delimitación del territorio epidémico es adecuada. En la zona del brote el riesgo de contraer la enfermedad es muy superior al del resto de la CM. La incidencia media anual de casos de leishmaniasis visceral asociados al brote en el territorio epidémico fue casi 20 veces mayor que la de casos esporádicos en el resto de la CM. Parecida relación se establece para las incidencias específicas por edad y sexo. Hasta ahora la situación epidemiológica no ha requerido la ampliación del territorio epidémico.

No se han encontrado diferencias por sexo entre los casos asociados al brote y los esporádicos. Tampoco por edad, en ambos grupos la distribución fue similar. Sí por origen, en los casos asociados al brote comunitario de la zona suroeste de la CM se observa un mayor porcentaje de personas de origen subsa-

Tabla 2

COMPARACIÓN DE LOS CASOS DE LEISHMANIASIS VISCERAL SEGÚN ASOCIACIÓN AL BROTE DE LA ZONA SUROESTE. COMUNIDAD DE MADRID, JULIO 2009 - JUNIO 2014

TOTAL	BROTE		CASOS ESPORÁDICOS		P	
	N 222	% 64,2	N 124	% 35,8		
Sexo						
Hombre	156	70,3	86	69,4	0,476	
Mujer	66	29,7	38	30,6		
Edad						
Media (en años)	39,1		40,6		0,588	
< 2	29	13,1	11	8,9	0,562	
2 a 14	18	8,1	10	8,1		
15 a 29	24	10,8	11	8,9		
30 a 44	48	21,6	37	29,8		
45 a 59	52	23,4	26	21,0		
> 59	51	23,0	29	23,4		
País origen						
España	166	74,8	102	82,3	<0,01	
África subsahariana	41	18,5	6	4,8		
Otros	15	6,8	16	12,9		
Tipo leishmaniasis						
Visceral	187	84,2	111	89,5	<0,01	
Atípica	31	14,0	4	3,2		
Cutáneo-mucosa	4	1,8	9	7,3		
Fact. riesgo intrínsecos						
Sí	67	30,2	63	50,8	<0,01	
No	155	69,8	61	49,2		
Ingreso hospitalario						
Sí	184	82,9	94	75,8	0,075	
No	38	17,1	30	24,2		
Clasificación						
Confirmado	193	86,9	108	87,1	0,554	
Sospechoso/Probable	29	13,1	16	12,9		
Método diagnóstico						
Serología	Sí	142	64,0	58	46,8	<0,01
	No	80	36,0	66	53,2	
Cultivo	Sí	15	6,8	43	34,7	<0,01
	No	207	93,2	81	65,3	
Biopsia	Sí	182	82,0	91	73,4	0,042
	No	40	18,0	33	26,6	
Demora (media en días)	82,5		187,7		<0,01	

Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO).

hariano, que mayoritariamente son de raza negra.

En cuanto a los factores de riesgo, en los casos de leishmaniasis visceral asociados al brote comunitario de la zona suroeste de la CM se observa un menor porcentaje de personas con factores de riesgo intrínsecos.

El porcentaje de casos confirmados es similar en ambos grupos, pero la serología y la biopsia se utilizan con mayor frecuencia como método de confirmación de los casos asociados al brote.

En la zona del brote existe una mayor sensibilización

ante la enfermedad que hace que la demora en la notificación de los casos sea menor que en los casos esporádicos. La estimación de la demora se realiza a partir de la fecha de inicio de síntomas, por ser la que más se aproxima al riesgo.

El análisis comparativo de los casos de leishmaniasis notificados en la CM, según asociación al brote comunitario de la zona suroeste de la CM, aporta información para delimitar adecuadamente el territorio epidémico del brote y detectar de forma precoz la posible extensión a otras zonas.

Tabla 3

INCIDENCIA MEDIA ANUAL Y RAZÓN DE INCIDENCIAS DE LEISHMANIASIS VISCERAL SEGÚN ASOCIACIÓN AL BROTE DE LA ZONA SUROESTE. COMUNIDAD DE MADRID, JULIO 2009 - JUNIO 2014

	INCIDENCIA MEDIA ANUAL x 105 BROTE	INCIDENCIA MEDIA ANUAL x 105 ESPORÁDICOS	RAZÓN DE INCIDENCIAS	IC AL 95%
TOTAL	7,77	0,42	18,52	14,87 - 23,07
Sexo				
Hombre	10,83	0,60	17,89	13,75 - 23,28
Mujer	4,65	0,25	18,82	12,62 - 28,04
Edad				
< 2	29,85	1,10	27,14	13,56 - 54,33
2 a 14	5,13	0,28	18,25	8,42 - 39,53
15 a 29	4,70	0,22	21,58	10,57 - 44,05
30 a 44	6,09	0,50	12,15	7,92 - 18,66
45 a 59	9,01	0,46	19,74	12,33 - 31,61
> 59	9,55	0,44	21,62	13,71 - 34,11

Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO).

BIBLIOGRAFÍA

- World Health Organization. Leishmaniasis, surveillance and control. Available from: www.who.int/leishmaniasis/surveillance/en/
- World Health Organization (WHO). Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010. Geneva: WHO; 2010. WHO technical report series; no. 949. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_949_eng.pdf
- Suarez B, Isidoro B, Santos S, Sierra MJ, Molina R, Astray J, et al. Situación epidemiológica y de los factores de riesgo de transmisión de Leishmania Infantum en España. Rev Esp Salud Pública. 2012; 86(6):555-564.
- De la Loma A, Alvar J, Martínez Galiano E, Blázquez J, Alcalá Muñoz A, Nájera R. Leishmaniasis or AIDS?. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1985; 79: 421-2.
- Encinas J, Fernández FJ, Lasheras MD, Barbas del Buey FJ. Leishmaniasis canina y humana: una visión de conjunto. Profesión veterinaria. 2006; 16(63): 28-33.
- Garrote JI, Gutiérrez MP, López R, Dueñas AI, Zarzosa P, Cañavate C. et. al. Seroepidemiologic study of Leishmania Infantum infection in Castilla-León, Spain. Am J Trop Med Hyg. 2004; 71(4): 403-6.
- Alvar J, Cañavate C, Gutiérrez-solar B, Jiménez M, Laguna F and López-Vélez R. Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. Clin Microbiol Rev.1997; 10(2):298-319.
- Búsqueda retrospectiva de casos de leishmaniasis humana en la Comunidad de Madrid (período 1991-1996). Consejería de Sanidad. Boletín Epidemiológico de la Comunidad de Madrid; 1999;5(6).
- Manual de Notificación Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria. Documentos Técnicos de Salud Pública nº 69. Instituto de Salud Pública. Consejería de Sanidad y Consumo. Comunidad de Madrid. 2006. Disponible en: http://www.madrid.org/cs/Satellite?blob_col=urldata&blobheader=application/pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1202740885300&ssbinary=true

BROTE DE LEISHMANIASIS EN LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID: DETECCIÓN E INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

Araceli Arce¹, Alicia Estirado¹, María Ordobás¹, Laura Moratilla¹, Natividad García¹, Ana M^a Pérez¹, Elisa Gil¹ y Emiliano Aranguez¹
Elena García Puente² y Ana M^a Martínez²

¹ Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

² Servicio de Medicina Preventiva. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Resumen

Desde julio de 2009 se está produciendo un brote comunitario de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid en población residente en cuatro municipios geográficamente cercanos que comparten amplios espacios de parques urbanos. Se describen las principales características epidemiológicas de los casos del brote. Se han notificado 584 casos hasta junio de 2014, a lo largo de cinco temporadas (27 casos en temporada 1, 173 en temporada 2, 206 en temporada 3, 91 en temporada 4 y 87 en temporada 5), con una tasa de incidencia de periodo de 20,32/100.000 habitantes. La mayor parte de los casos residen en Fuenlabrada, con concentración espacial en el norte del casco urbano. La mediana de la edad es de 47 años, rango 2 meses - 95 años. El 61,3% son hombres. El 11,5% de los enfermos son originarios de África subsahariana, porcentaje que se eleva al 27,5% en las formas viscerales. El 16,1% presenta patología inmunosupresora. El 3,3% está coinfectado por VIH. El 38,0% son formas viscerales y el 62,0% cutáneas. El 94,3% son casos confirmados y se ha identificado *L. infantum*. El 31,7% de los pacientes ha precisado hospitalización. La mediana del tiempo de demora desde el inicio de los síntomas hasta fecha de la notificación ha sido de 134 días. Es el brote comunitario de mayor

magnitud descrito en España y en Europa. En la etiología multifactorial del brote destaca el hallazgo de un nuevo reservorio. La investigación epidemiológica y las medidas de intervención ambientales continúan.

Introducción

La leishmaniasis es una enfermedad zoonótica endémica en la cuenca mediterránea y en España ^{1,2}. En la Comunidad de Madrid (CM) la leishmaniasis se vigila a través del sistema de notificación de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) desde 1997, aunque no es de notificación obligatoria a nivel estatal ³.

Hasta el año 2010 se venían notificando, con pequeñas oscilaciones, entre 20 y 40 casos anuales en toda la región, todos ellos esporádicos ⁴. Sin embargo, en diciembre de 2010 se detectó un importante aumento en las notificaciones con respecto a años anteriores. La investigación epidemiológica retrospectiva mostró que desde julio de 2009 se estaba produciendo un brote comunitario de leishmaniasis en la zona suroeste de la CM que afectaba a residentes de cuatro municipios cercanos, fundamentalmente de Fuenlabrada y en menor magnitud de Leganés, Getafe y Humanes de Madrid ⁵.

El objetivo de este artículo es describir las prin-

cipales características epidemiológicas de los casos del brote comunitario de leishmaniasis que se está produciendo en la zona suroeste de la CM, que en el momento de elaboración del presente artículo continúa abierto.

Metodología

Desde la Red de Vigilancia Epidemiológica, una vez detectado el inusual aumento de casos, se intensificaron y diversificaron las estrategias de vigilancia, dirigidas a garantizar la calidad y exhaustividad de los datos. Se hizo una búsqueda retrospectiva de casos a través de diferentes fuentes de información, se incorporó como fuente de notificación todos los diagnósticos realizados en el Centro Nacional de Microbiología (centro de referencia nacional para el diagnóstico de la enfermedad) y se incorporó la revisión del Conjunto Mínimo Básico de Datos al Alta Hospitalaria (CMBD) como fuente complementaria a la notificación. Ante cada caso que se detecta, además del cuestionario epidemiológico básico, se profundiza en la investigación epidemiológica a través de un cuestionario ampliado, que contiene información relacionada con el domicilio de los casos, su entorno laboral y los hábitos de ocio.

Se estableció una definición de caso específica para el brote, quedando definida como toda persona enferma de leishmaniasis que cumple los criterios clínicos y de laboratorio definidos por la Red de Vigilancia, con domicilio de residencia o estancia en alguno de los cuatro municipios que conforman el territorio epidémico (Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid) y con fecha de inicio de síntomas desde el 1 de julio de 2009. La fecha de comienzo del brote se estableció en el 1 de julio de 2009 porque a partir de esa fecha se inició una acumulación de casos en el territorio epidémico; durante los primeros seis meses de 2009 sólo había una baja endemia basal en este territorio.

Con el objetivo de correlacionar la aparición de casos con los meses en que las probabilidades de exposición a la picadura del vector son mayores (cuando el vector se encuentra más activo, entre los meses de mayo a octubre), y teniendo en cuenta los periodos medios de incubación de esta enfermedad (entre uno y doce meses), se han determinado cinco temporadas epidemiológicas de vigilancia de 12 meses de duración, con inicio el 1 de julio y final el 30 de junio del año siguiente. Los casos se han agrupado según la fecha de inicio de síntomas en estas cinco temporadas.

La definición de caso de leishmaniasis y los criterios de clasificación son los correspondientes al protocolo de vigilancia y figuran en el Manual de Notificación de EDO⁶. Aunque en la definición del criterio clínico de caso se contempla la categoría de leishmaniasis mucocutánea, dada la excepcionalidad de esta forma de presentación, para el brote se

han clasificado todos los casos en formas viscerales y formas cutáneas. Las formas atípicas (ganglionares o con otras localizaciones) también se han incluido dentro de las viscerales para el análisis. Se considera caso probable aquel que es clínicamente compatible con la definición clínica y en las formas viscerales, además, presenta una serología positiva. El diagnóstico de confirmación se realiza mediante la demostración de la presencia del parásito (visualización, PCR) en aspirados o material de biopsia obtenido de los bordes de la lesión cutánea o en el caso de la leishmaniasis visceral, de médula ósea, hígado, bazo, ganglios linfáticos o sangre, o bien mediante el aislamiento del parásito. Las determinaciones de laboratorio se realizaron en los hospitales de referencia de cada persona enferma y en el Centro Nacional de Microbiología en el que, además, se realizó la tipificación del patógeno.

Se realiza un análisis descriptivo de las variables epidemiológicas estudiadas: sexo, edad, país de origen, mes, año y temporada epidemiológica de inicio de síntomas, forma clínica de presentación (visceral o cutánea), clasificación, método diagnóstico, factores de riesgo intrínseco (enfermedad inmunosupresora y/o tratamiento inmunosupresor), factores de riesgo extrínseco (exposición medioambiental al vector y/o al reservorio) y tiempo de demora desde el inicio de síntomas hasta la notificación. Se analiza el total de los casos y desagregado según forma de presentación clínica. Se realiza, además, la georreferenciación de los casos a partir de los datos del domicilio de las personas enfermas, para detectar patrones espaciales de agregación de casos.

Se calculan las tasas de incidencia de período por 100.000 habitantes y por municipio. Se utiliza como denominador la población recogida en el padrón continuo publicado por el Instituto de Estadística de la CM.

Resultados

Principales características epidemiológicas de los casos

Los casos asociados al brote representan el 77,1% de todos los casos notificados en la CM desde el inicio del brote.

Desde el 1 de julio de 2009 hasta el 30 de junio de 2014 se han notificado 584 casos de leishmaniasis a la Red de Vigilancia Epidemiológica que cumplen los criterios de definición de caso para este brote comunitario, lo que representa una tasa de incidencia de período (TI) de 20,44 casos por 100.000 habitantes en el territorio epidémico. Los enfermos residen en los siguientes municipios: Fuenlabrada (470 casos; TI: 47,41), Leganés (62 casos; TI: 6,63), Getafe (44 casos; TI: 5,13) y Humanes de Madrid (8 casos; TI: 8,48) (tabla 1).

Tabla 1

DISTRIBUCIÓN DE LOS CASOS SEGÚN FORMA DE PRESENTACIÓN, POR TEMPORADA EPIDEMIOLÓGICA DE INICIO DE SÍNTOMAS Y MUNICIPIO DE RESIDENCIA
BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID,
JUNIO 2009 - JULIO 2014

		TEMPORADA 1	TEMPORADA 2	TEMPORADA 3	TEMPORADA 4	TEMPORADA 5	Total
		(Julio 2009 a junio 2010)	(Julio 2010 a junio 2011)	(Julio 2011 a junio 2012)	(Julio 2012 a junio 2013)	(Julio 2013 a junio 2014)	
FUENLABRADA	TOTAL	23	141	170	66	70	470
	Visceral	12	40	47	26	29	154
	Cutánea	11	101	123	40	41	316
HUMANES	TOTAL	0	3	3	0	2	8
	Visceral	0	0	2	0	2	4
	Cutánea	0	3	1	0	0	4
LEGANÉS	TOTAL	2	19	21	14	6	62
	Visceral	2	12	11	8	5	38
	Cutánea	0	7	10	6	1	24
GETAFE	TOTAL	2	10	12	11	9	44
	Visceral	1	8	5	5	7	26
	Cutánea	1	2	7	6	2	18
ZONA DEL BROTE	TOTAL	27	173	206	91	87	584
	Visceral	15	60	65	39	43	222
	Cutánea	12	113	141	52	44	362

Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO).

El 38,0% de los enfermos asociados al brote han presentado una leishmaniasis visceral (222 casos, TI: 7,72) y el 62,0% restante una leishmaniasis cutánea (362 casos, TI: 12,59). En la figura 1 se presenta la distribución de los casos por temporada epidemiológica y municipio de residencia, según forma de presentación.

En la figura 2 se muestra la distribución de los casos por sexo y grupo de edad según la forma de presentación clínica. El 61,3% de los casos son hombres. La mediana de la edad es de 47 años (43 años en las viscerales y 50 en las cutáneas) y el rango de edad va desde 2 meses a 95 años. Destaca la aparición de 23 casos en menores de 1 año (19 con leishmaniasis visceral y 4 con leishmaniasis cutánea) y 11 casos entre 12 y 23 meses (10 con leishmaniasis visceral y uno con leishmaniasis cutánea).

En la tabla 2 se presentan las principales variables clínico-epidemiológicas de los casos. En relación al país de origen, el 78,9% son nacidos en España y hay un 21,1% de casos de origen extranjero (36,9% en las formas viscerales y 11,3% en las cutáneas). En este grupo destaca la presencia de 67 personas (11,5%) originarios de África subsahariana, de los cuales 61 presentan una leishmaniasis visceral, que corresponde al 27,5% de todas las leishmaniasis viscerales.

El 94,3% de los casos son confirmados por el laboratorio y el 5,7% restante son casos probables. Entre los casos en los que se ha realizado aislamiento del parásito, se ha identificado *L. infantum*. Todos

los pacientes con leishmaniasis visceral han curado tras recibir el tratamiento específico, salvo diez pacientes que han fallecido, todos ellos por la comorbilidad previa asociada a la leishmaniasis.

La mediana del tiempo de demora en la notificación, desde el inicio de los síntomas hasta la fecha de la comunicación al servicio territorial, ha sido de 159,3 días (82,5 días en las formas viscerales, con un mínimo de 9 días y 206,4 días en las formas cutáneas, con un mínimo de 35 días).

A través de la encuesta epidemiológica se ha recogido la existencia de factores de riesgo intrínsecos que podían disminuir la inmunidad en el 16,1% de los casos: 30,2% en las formas viscerales y 7,5% en las cutáneas, pudiendo coincidir en una misma persona más de una enfermedad y tratamiento inmunosupresor. En la investigación de factores de riesgo ambientales en el entorno se recogió la existencia de perros en el domicilio o vecindario en el 25,5% de los casos (el 3,3% refieren haber tenido contacto con perros aparentemente enfermos -sin especificar enfermedad- que posteriormente se verificó que no estaban afectados de leishmaniasis), existencia de cúmulos de mosquitos en el 21,9%, explotaciones ganaderas en el 2,7% y escombreras o vertederos en el 5,5%. En el 20,4% de los casos constaba el antecedente de viaje durante el periodo de incubación, sobre todo a destinos turísticos nacionales. A través de la encuesta epidemiológica no se detectaron factores de riesgo ambientales determinantes que orientaran las medidas de control.

Figura 1. Distribución de los casos según forma de presentación, por temporada epidemiológica y municipio de residencia. Brote comunitario de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid, Junio 2009-Julio 2014.
Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO)*.

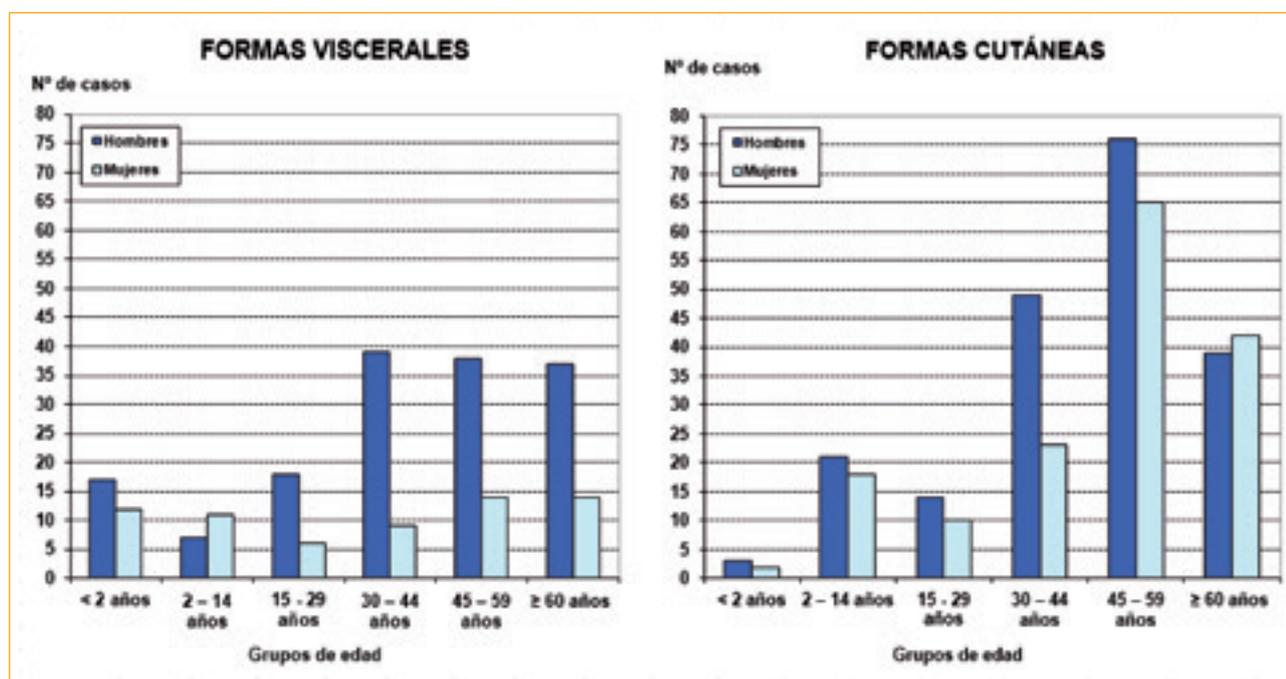
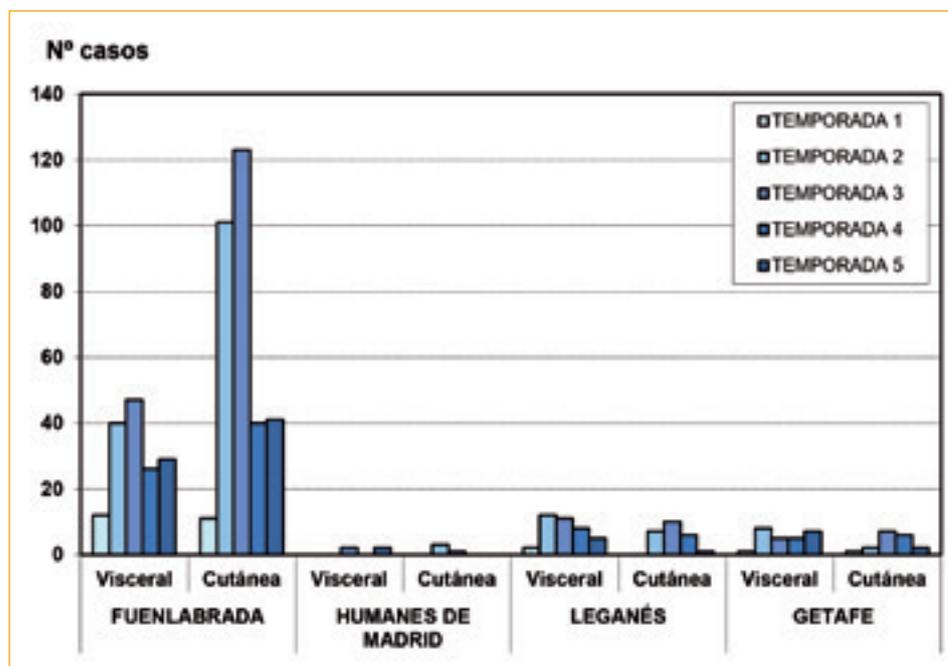


Figura 2. Distribución de los casos por grupos de edad y sexo, según forma de presentación. Brote comunitario de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid, Julio 2009-junio 2014.
Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO)*.

Distribución temporal de los casos

En la figura 3 se presenta la curva epidemiológica de aparición de los casos por mes de inicio de síntomas, según forma de presentación. El máximo epidémico del brote se alcanzó en la segunda temporada epidemiológica, en enero de 2011, descendiendo ligeramente en las temporadas 3 y 4. Tam-

bién cabe destacar la existencia de un periodo de cinco meses, de mayo a septiembre de 2013, en el que no se produjo ningún caso de leishmaniasis visceral. Desde noviembre de 2013 hasta el momento de cierre de este estudio la aparición de casos ha seguido un patrón análogo al de la temporada anterior y se mantiene una incidencia de magnitud elevada.

Tabla 2

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS SEGÚN FORMA DE PRESENTACIÓN. BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID, JULIO 2009 - JUNIO 2014.

	FORMAS VISCERALES		FORMAS CUTÁNEAS		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
Sexo						
Hombre	156	70,3	86	69,4	0,476	
Mujer	66	29,7	38	30,6		
Edad (en años)						
< 2	29	13,1	5	1,4	34	5,8
2 – 14	18	8,1	39	10,8	57	9,8
15 – 29	24	10,8	24	6,6	48	8,2
30 – 39	32	14,4	47	13,0	79	13,5
40 – 49	36	16,2	59	16,3	95	16,3
50 – 59	32	14,4	107	29,6	139	23,8
60 a 69	30	13,5	56	15,5	86	14,7
≥ 70	21	9,5	25	6,9	46	7,9
País origen						
España	140	63,1	321	88,7	461	78,9
África Subsahariana	61	27,5	6	1,7	67	11,5
Otros	21	9,5	35	9,7	56	9,6
Temporada epidemiológica						
1: julio 2009 a junio 2010	15	6,8	12	3,3	27	4,6
2: julio 2010 a junio 2011	60	27,0	113	31,2	173	29,6
3: julio 2011 a junio 2012	65	29,3	141	38,9	206	35,3
4: julio 2012 a junio 2013	39	17,6	52	14,4	91	15,6
5: julio 2013 a junio 2014	43	19,4	44	12,2	87	14,9
Clasificación						
Confirmado	193	86,9	358	98,9	551	94,3
Probable / Sospechoso	29	13,1	4	1,1	27	5,7
Método diagnóstico						
Biopsia/Aspiración	182	82,0	357	98,6	539	92,3
Cultivo	15	6,8	24	6,6	39	6,7
Serología	142	64,0	0	0,0	142	24,3
Ingreso hospitalario	184	82,9	1	0,3	185	31,7
Factores de riesgo intrínseco						
Tratamiento inmunosupresor	37	16,7	20	5,5	57	9,8
VIH	17	7,7	2	0,6	19	3,3
Otras enf. inmunosupresoras	28	12,6	8	2,2	36	6,2
Alcoholismo	15	6,8	3	0,8	18	3,1
Consumo drogas vía parenteral	1	0,5	1	0,3	2	0,3
Factores de riesgo extrínseco						
Contacto con perros	72	32,4	77	21,3	149	25,5
Contacto con perros enfermos	9	4,1	10	2,8	19	3,3
Hábitats de mosquitos	48	21,6	80	22,1	128	21,9
Escombreras o vertederos	13	5,9	19	5,2	32	5,5
Explotaciones ganaderas	6	2,7	10	2,8	16	2,7
Antecedentes de viaje	47	21,2	72	19,9	119	20,4
Demora (media en días)	82,5		206,4		159,3	
TOTAL	222	38,0	362	62,0	584	100,0

Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO).

Distribución espacial de los casos

En la figura 4 se presenta la localización espacial de los casos. La mayor parte de los casos residen en la zona norte de Fuenlabrada. En este municipio es donde se aprecia una mayor concentración espacial en el norte del casco urbano, en la zona limítrofe con suelo no edificado. En el resto de municipios no se

ha encontrado este patrón de concentración espacial, aunque se observan agrupaciones de casos en algunas áreas. En los núcleos urbanos de Leganés y Getafe se aprecia que el mayor número de casos se encuentra al sur, en las zonas más próximas al casco urbano de Fuenlabrada.

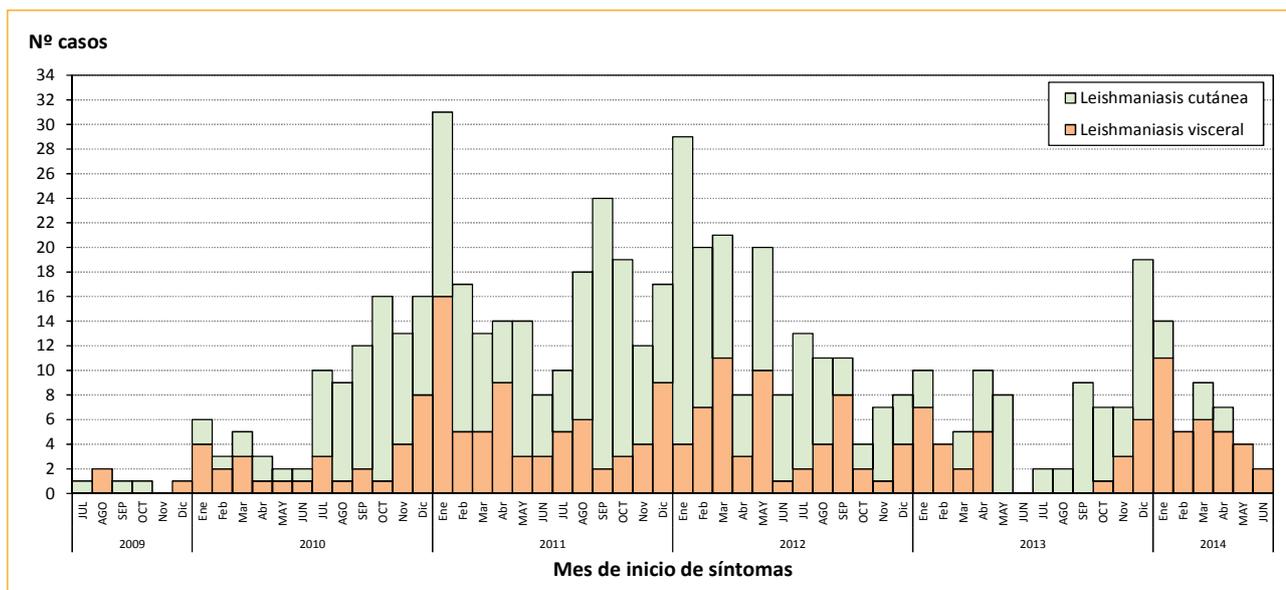


Figura 3. Curva epidémica por mes de inicio de síntomas, según forma de presentación. Brote comunitario de leishmaniasis de la zona suroeste de la Comunidad de Madrid, Julio 2009-Junio 2014.

Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO)*.

Discusión y conclusiones

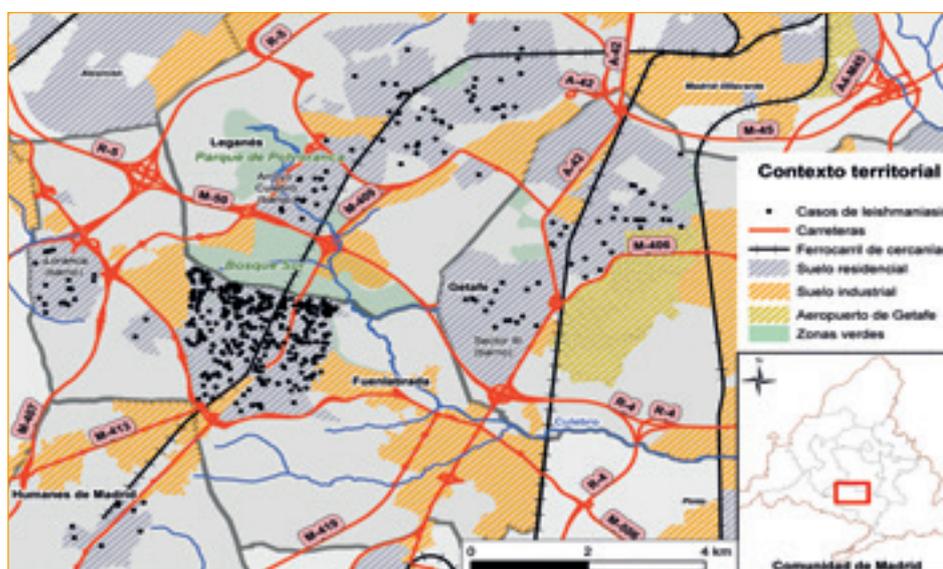
La vigilancia epidemiológica ha permitido detectar un brote de leishmaniasis que se inició en el segundo semestre de 2009 en la población residente en cuatro municipios cercanos del suroeste de la CM que comparten amplios espacios de parques urbanos ⁵. Hasta julio de 2014 se han producido 584 casos asociados, que representan cerca del 80% de los casos notificados en este período en toda la región. Es el brote comunitario de mayor magnitud descrito en España y en Europa y se ha producido en un entorno urbano que presentaba previamente

una endemia muy baja, muy diferente a otros brotes descritos en la literatura ⁷.

La leishmaniasis visceral es una enfermedad grave que requiere un diagnóstico y tratamiento específico, habitualmente con ingreso hospitalario, factor que contribuye a que esta forma de enfermedad sea notificada a la Red de Vigilancia. La leishmaniasis cutánea produce una enfermedad más leve y puede curar espontáneamente. En el presente brote, dado que el sistema sanitario de la zona suroeste estaba alertado, probablemente se haya solicitado una mayor confirmación etiológica en pacientes con leishmaniasis cutánea en relación a lo que suele ser habitual.

Figura 4. Localización espacial de los casos de leishmaniasis en el territorio epidémico, según domicilio de residencia. Brote comunitario de leishmaniasis de la zona suroeste de la Comunidad de Madrid, Julio 2009-Junio 2014.

Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO)*.



Se han producido casos en todos los grupos de edad. En las formas viscerales se ha observado una mayor afectación de los varones en casi todos los grupos de edad, especialmente llamativa en los mayores de 30 años. En las formas cutáneas la distribución según sexo es más similar. El cuadro clínico presentado ha sido el característico de la enfermedad y la evolución ha sido favorable tras recibir el tratamiento específico. La letalidad encontrada es compatible con la comorbilidad de los pacientes. Cabe destacar que el 11,5% de los enfermos son originarios de África subsahariana, porcentaje que se eleva al 27,5% en las formas viscerales (en el territorio epidémico la población subsahariana supone el 1,3% del total de la población).

El tiempo de demora obtenido desde el inicio de los síntomas hasta la notificación a Salud Pública ha tenido una mediana de 37 días en las formas viscerales, frente a 180 días en las formas cutáneas. Esta cifra agrupa factores atribuibles tanto al enfermo (tiempo en consultar al médico) como al sistema sanitario (diagnóstico y notificación), que en las formas cutáneas se alarga por el mayor retraso del paciente en solicitar atención y del médico en considerar el diagnóstico diferencial de leishmaniasis y en esperar a la confirmación para notificar el caso ⁸.

En la distribución temporal de los casos se pueden observar cinco períodos estacionales del ciclo vital del flebotomo, que se desarrolla entre los meses de mayo y octubre, con un máximo epidémico de casos en el invierno 2010-2011. El período de incubación de la enfermedad es variable, puede oscilar desde una semana a varios meses y habitualmente es más largo en las formas viscerales, lo que puede explicar que estas formas debuten con mayor frecuencia en los meses fríos del año. La curva epidémica permite plantear la hipótesis de que el problema en reservorio y/o vector se inició en el verano de 2009, tuvo su acmé en el verano de 2010, disminuyó en el verano de 2012 gracias a las numerosas medidas de control ambiental puestas en marcha y se mantiene estable desde entonces.

En la mayor parte de los enfermos no se ha evidenciado la existencia de patología de base que pudiera alterar la susceptibilidad, si bien se han encontrado diferencias importantes según la forma clínica: 30,2% en formas viscerales y 7,5% en cutáneas. Esta

enfermedad ha estado ligada en las últimas décadas a la inmunosupresión y especialmente asociada al VIH. En el presente brote, sólo el 3,3% estaban coinfectados por VIH.

En la investigación de los antecedentes de viajes durante el período de incubación, ninguno de los destinos ha sido a una zona de alta endemia para esta enfermedad, por lo que el riesgo de exposición no puede considerarse importado.

El análisis espacial permite identificar zonas de mayor riesgo y estudiar de forma conjunta la presentación espacial de los casos junto con otros elementos clave del ciclo de la enfermedad: vectores y reservorios. La mayor parte de los casos residen en Fuenlabrada y en este municipio es donde se aprecia una mayor concentración espacial en el norte del casco urbano. En el resto de municipios no se ha encontrado este patrón de concentración espacial, aunque hay mayor número de casos en las zonas más próximas a la zona urbana de Fuenlabrada ¹⁰.

En España el perro ha sido considerado el principal reservorio para *L. Infantum*, en este brote sólo el 25,5% de casos reconocen un contacto con perros en su entorno doméstico o peridoméstico y los casos que tenían perros de compañía en sus domicilios les aplicaban adecuadas medidas de protección frente a picaduras. Una aproximación para valorar la posible presencia de vectores se ha realizado preguntando a los enfermos sobre su entorno: casa, trabajo, ocio, vecindad, vacaciones. La presencia cercana de hábitats de mosquitos, vertederos, etc., ha sido reseñada en un bajo porcentaje de casos, por lo que a través de la investigación epidemiológica no se pudieron detectar factores de riesgo ambientales clásicamente descritos que fueran determinantes.

Aspectos ambientales como el cambio climático, la creciente urbanización, el desarrollo socioeconómico, etc., son factores que están produciendo cambios en la epidemiología de las enfermedades infecciosas ¹¹. Los factores ambientales que se conocen y que han podido contribuir a la génesis de este brote son múltiples, destacando el hallazgo del nuevo reservorio ⁹⁻¹⁰. La investigación epidemiológica y las medidas de intervención ambientales continúan.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the control of the leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.
- ² Ready PD. Leishmaniasis emergence in Europe. Euro Surveill. 2010;15(10): pii=19505.
- ³ Boletín epidemiológico de la Comunidad de Madrid. Informe: búsqueda retrospectiva de casos de leishmania-

sis humana en la Comunidad de Madrid (período 1991-1996). Vol 6, nº 5, septiembre-octubre 1999.

⁴ Boletín epidemiológico de la Comunidad de Madrid. Morbilidad por enfermedades de declaración Obligatoria. Comunidad de Madrid. Año 2010. Vol 17, nº 11, noviembre 2011.

⁵ Boletín epidemiológico de la Comunidad de Madrid.

- Brote comunitario de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid. Año 2011. Vol 17, n° 12, diciembre 2011.
- ⁶ Manual de Notificación Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria. Documentos Técnicos de Salud Pública n° 69. Instituto de Salud Pública. Consejería de Sanidad y Consumo. Comunidad de Madrid. 2006.
- ⁷ Gradoni L. Epidemiological surveillance of leishmaniasis in the European Union: operational and research challenges. *Euro Surveill.* 2013;18(30):pii=20539. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20539>
- ⁸ Dujardin JC, Campino L, Cañavate C, Dedet JP, Gradoni L, Soteriadou K, et al. Spread of vector-borne diseases and neglect of Leishmaniasis, Europe. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(7):1013-8.
- ⁹ Arce A, Estirado A, Ordobas M, Sevilla S, García N, Moratilla L, de la Fuente S, Martínez AM, Pérez AM, Aránguez E, Iriso A, Sevillano O, Bernal J, Vilas F. Re-emergence of leishmaniasis in Spain: community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill.* 2013;18(30):pii=20546. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20546>
- ¹⁰ Aránguez Ruiz E, Arce Arnáez A, Moratilla Monzo L, Estirado Gómez A, Iriso Calle A, De la Fuente Ureña S, Soto Zabalgoeazcoa MJ, Fuster Lorán F, Ordobás Gavín M, Martínez Serrano AM, Vilas Herranz F. Análisis espacial de un brote de leishmaniasis en el sur del área metropolitana de la Comunidad de Madrid. 2009-2013. *Rev salud ambient.* 2014;14(1):39-53.
- ¹¹ Semenza JC, Menne B. Climate change and infectious diseases in Europe. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:365-75.

BROTE DE LEISHMANIASIS EN LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID: CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y FACTORES DE RIESGO

Laura Moratilla, Natividad García, Alicia Estirado, María Ordobás, Araceli Arce, M^a Dolores Lasheras, Ana M^a Pérez y Ana M^a Martínez

Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Resumen

La zoonosis producida por *L.infantum* está presente en la cuenca mediterránea de forma endémica. Tiene varias formas de presentación clínica y su aparición está determinada por factores de exposición al vector y del sistema inmunitario del huésped. En la zona suroeste de la Comunidad de Madrid (CM) se detectó un brote de leishmaniasis que comenzó en julio de 2009 y permanece activo. El objetivo de este estudio es describir las características demográficas y epidemiológicas de la población en riesgo y los factores individuales y ambientales asociados a las personas enfermas, así como sus manifestaciones clínicas. En 2013 la población residente en los municipios afectados suma 576.289 habitantes, de los que 77.277 son extranjeros, y de ellos 6.445 proceden de países de África Subsahariana, principalmente Nigeria y Guinea Ecuatorial. La tasa de incidencia global es de 20,44 casos por cien mil habitantes, siendo más elevada entre varones, en edades infantiles y en el municipio de Fuenlabrada. La población de los países de África Subsahariana occidental se presenta como grupo de especial vulnerabilidad para esta enfermedad, al presentar tasas muy elevadas en las formas viscerales (289,74 casos por cien mil habitantes). La coinfección con VIH también es factor de riesgo para presentar la enfermedad visceral. Los factores ambientales presentes en los municipios afectados se relacionan tanto con

la presencia del vector como del reservorio cerca de las viviendas, pero no se observa ningún elemento común de exposición al vector que explique este brote.

Introducción

En España la leishmaniasis es una zoonosis endémica presente en la mayor parte del territorio peninsular y en las Islas Baleares. Los dos vectores competentes para la transmisión, *Phlebotomus perniciosus* y *Phlebotomus ariasi*, se encuentran distribuidos ampliamente por todo el territorio peninsular, por lo que la transmisión del parásito es posible allí donde se den las condiciones más favorables.

Los factores humanos intrínsecos, ya descritos en la literatura, que predisponen a la enfermedad clínica son la edad, el sexo masculino, la desnutrición, el estado de inmunodepresión o la coinfección con VIH^{1,2}.

También se han descrito factores relacionados con la vivienda: suelo de tierra, paredes de madera, presencia de perros en el domicilio³, jardín propio y cercanía a zonas ajardinadas y/o forestales⁴; así como del comportamiento humano referidos a la toma de medidas de protección, como el uso de mosquiteras e insecticidas en sus domicilios⁵ y medidas de protección individuales, como administración de repelentes durante sus actividades al aire libre.

La historia de exposición del territorio en el que ocurre el ciclo de transmisión influye en la edad de las personas que enferman. Así, en zonas endémicas los más afectados por *L. infantum* son los menores de 5 años. Los adultos han estado expuestos durante su vida y han adquirido inmunidad natural frente al parásito, por lo que los casos en estas edades son menos frecuentes. En zonas de alta endemia los estudios poblacionales de prevalencia de la infección con test cutáneo frente a leishmanina (prueba de Montenegro), obtienen resultados positivos en mayor proporción en edad adulta frente a la infantil y este porcentaje de infección se incrementa con la edad.

Este patrón en la prevalencia de infección que se correlaciona con el tiempo de exposición no se observa cuando la leishmaniasis se introduce en poblaciones previamente no inmunes o *naive*¹ que nunca han estado expuestas por haber vivido en zonas en las que no existe la zoonosis. Se ha descrito una mayor susceptibilidad a la enfermedad en grupos de poblaciones que viven en áreas no endémicas y que se desplazan a otras donde ya existen ciclos de transmisión. La guerra civil durante los años 80-90 en Sudán del Sur provocó el desplazamiento de población hacia zonas endémicas provocando un gran brote en el que se estima la muerte de cientos de miles de personas por leishmaniasis visceral^{1,6,7}.

Además, en las áreas en las que la enfermedad se ha introducido recientemente, todos los grupos de edad son susceptibles y muchos casos ocurren en hombres adultos, debido a que a la mayor susceptibilidad por sexo se añaden la realización de actividades con mayor exposición al vector. El brote de Etiopía declarado en 2005 en zonas en las que no existía esta enfermedad, se ha relacionado con el flujo de trabajadores temporales que regresan a sus hogares desde zonas endémicas de leishmaniasis en la frontera con Sudán, donde realizaban labores de recolección^{8,9}.

Este mayor riesgo de enfermar sucede también en población inmunodeprimida, en tanto en cuanto la leishmaniasis es una enfermedad en la que la integridad del sistema inmunitario es un factor clave. Un claro exponente son las personas coinfectadas de VIH con severa inmunodepresión y que desarrollan la enfermedad con frecuentes recidivas a pesar del tratamiento¹⁰.

Desde julio de 2009 se constata la existencia de un brote comunitario de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid (CM)¹¹ que continúa abierto en noviembre de 2015. Afecta principalmente a población residente de los municipios de Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid. Se estudian con especial atención la presentación de la enfermedad en personas infectadas con VIH y también en personas de procedencia extranjera.

El objetivo de este artículo es describir las características demográficas y epidemiológicas de la población de riesgo y los factores asociados, tanto individuales como ambientales, así como describir las manifestaciones clínicas una vez adquirida la enfermedad.

Metodología

Se realiza un estudio descriptivo demográfico poblacional de los municipios afectados, número de habitantes, estructura representada mediante pirámides de población, descripción de la población extranjera residente en los mismos, y de la población residente en la zona con diagnóstico de infección por VIH. Los datos poblacionales se han obtenido del padrón continuo publicado por el Instituto de Estadística de la Comunidad de Madrid para los años 2010 al 2013. La población que vive con VIH se ha obtenido del registro de VIH/sida de la Comunidad de Madrid del año 2009 al 2013.

Se incluyen los casos notificados a la red de vigilancia hasta el 1 de septiembre de 2014 que cumplen los criterios de caso del brote detallados en los artículos previos del presente capítulo. Además del cuestionario epidemiológico básico, se profundiza en la investigación a través de la recopilación de datos clínicos y de un cuestionario telefónico ampliado¹², el cual recoge información relacionada con el domicilio, entorno laboral y hábitos de ocio de los casos.

Se analizan las siguientes variables: forma de presentación clínica (agrupada en formas cutáneas y formas viscerales, que incluyen leishmaniasis visceral clásica, atípica y mucocutánea), manifestaciones y evolución clínica, sexo, edad, país de origen (en los casos en edad pediátrica se ha tenido en cuenta el país de origen de los padres para la categorización de esta variable), municipio de residencia, factores de riesgo intrínsecos (padecer enfermedad inmunosupresora, incluida VIH, ser receptor de trasplante de órgano, estar en tratamiento inmunosupresor, ser usuario de drogas por vía parenteral, transfusión previa, alcoholismo, enfermedades concomitantes como diabetes mellitus, etc.); factores de riesgo ambientales: presencia en el domicilio de perros y otras mascotas, características del cuidado del perro; características de la vivienda y su entorno y actividades de ocio y laborales (incluye hábitats de mosquitos, explotaciones ganaderas y escombreras) y medidas de protección frente a picaduras de mosquitos e insectos.

Se ha calculado la tasa de incidencia por 100.000 habitantes. Se utiliza como denominador la población recogida en el padrón continuo publicado por el Instituto de Estadística de la Comunidad de Madrid a mitad de periodo de cada año de duración del brote.

Resultados

Descripción general de la población en riesgo

Los municipios de Fuenlabrada, Humanes de Madrid, Leganés y Getafe se encuentran situados al suroeste de la CM. La población de los cuatro municipios afectados por el brote, con fecha de 1 de enero de 2013, es de 576.289 habitantes y su distribución se muestra en la tabla 1.

Las pirámides de población muestran gráficamente su distribución por edad y sexo. Las pirámides de los municipios de nuestro estudio corresponden, con pequeñas variaciones, a poblaciones envejecidas y con baja fecundidad. También se observa en todas ellas una mayor proporción de mujeres que de hombres en edades avanzadas. Destacar el municipio de Humanes de Madrid, con una población más joven a expensas sobre todo del grupo de edad de 30 a 39 años (figuras 1-4).

Tabla 1

POBLACIÓN POR SEXO Y MUNICIPIO DE RESIDENCIA

MUNICIPIOS	HOMBRES	MUJERES	TOTAL
Fuenlabrada	98.627	98.893	197.520
Humanes de Madrid	9.798	9.450	19.248
Leganés	91.606	95.389	186.995
Getafe	84.927	87.599	172.526

Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.

Descripción de la población extranjera

A principios de 2013 en la zona afectada por el brote estaban empadronadas 77.277 personas extranjeras entre los cuatro municipios, siendo 6.445 procedentes de países de África Subsahariana.

Las pirámides elaboradas muestran la composición de la población extranjera en los municipios

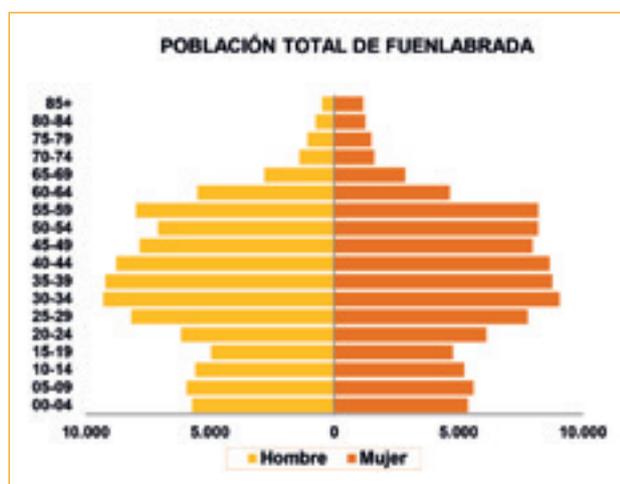


Figura 1. Pirámide de población de Fuenlabrada.

Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.

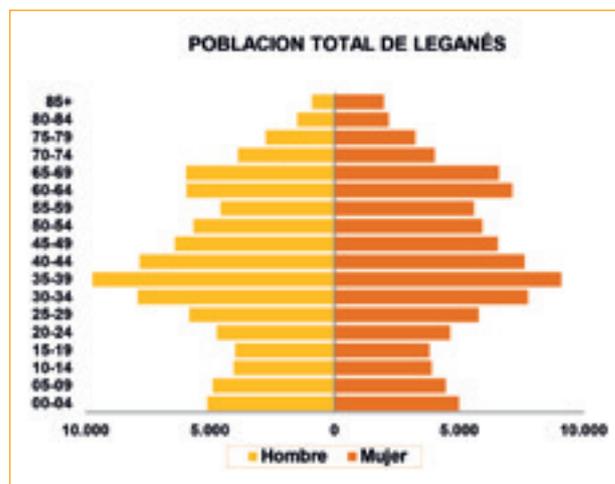


Figura 3. Pirámide de población de Leganés.

Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.

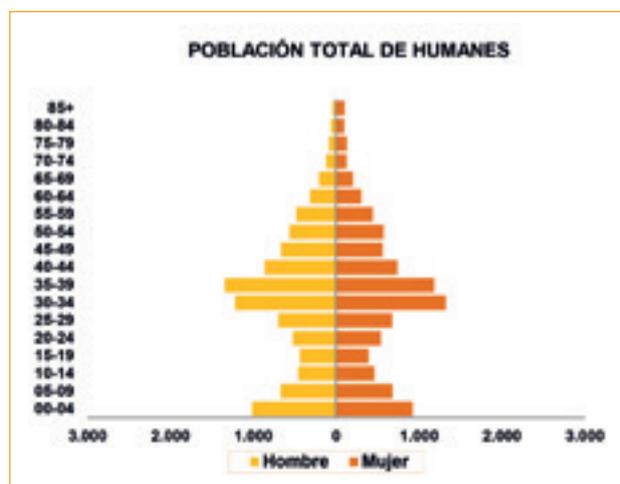


Figura 2. Pirámide de población de Humanes.

Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.

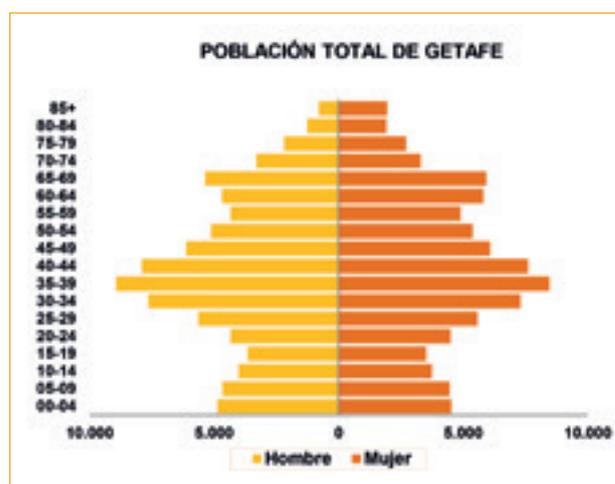


Figura 4. Pirámide de población de Getafe.

Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.

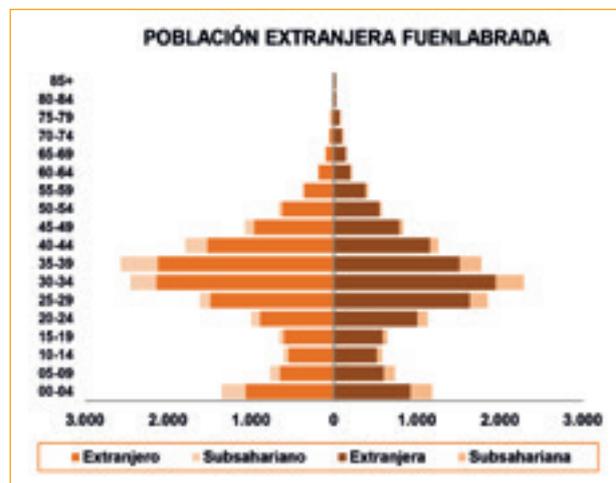
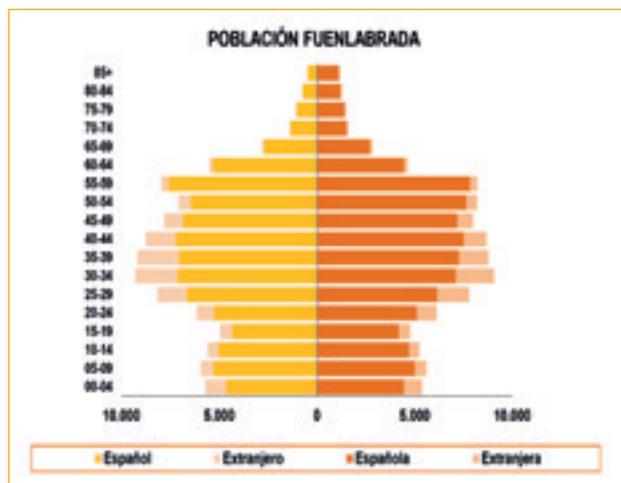
afectados. En las figuras 5, 7, 9 y 11 se remarca la distribución de personas extranjeras referida a la población total para cada estrato de edad de cada municipio, y en las figuras 6, 8, 10 y 12 el porcentaje de población subsahariana con respecto al total de personas extranjeras. En las pirámides de población extranjera destacan varios aspectos que difieren de la española. El primero es que el grupo de adultos entre 30 y 44 años es el más numeroso, con más hombres que mujeres. En segundo lugar que hay un número muy pequeño de personas ancianas y en tercero, que el grupo de cero a cinco años resulta ser el más numeroso entre niños y adolescentes. Se trata de poblaciones migrantes en edad fértil, con mayor índice de natalidad que la población autóctona.

Los municipios de Humanes de Madrid y Getafe son los que tienen el mayor porcentaje de población

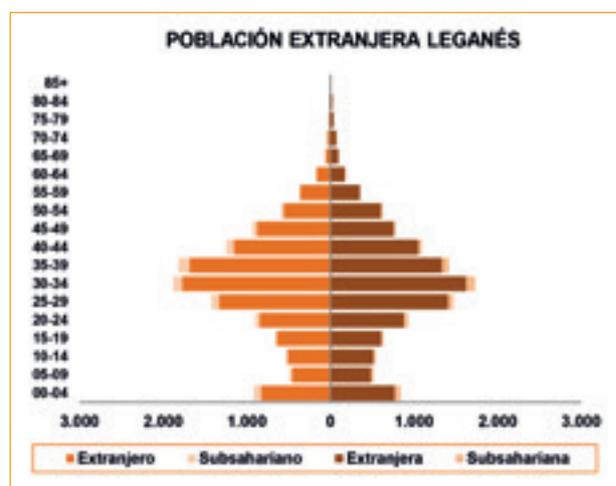
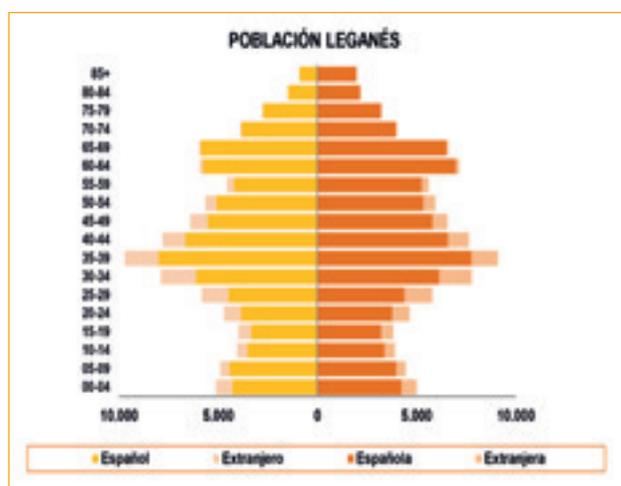
extranjera (16,9% y 15,3% respectivamente), seguidos de Fuenlabrada (12,9%) y Leganés (11,85%). Sin embargo, es Fuenlabrada el municipio que acoge mayoritariamente a personas de origen subsahariano, tanto en número absoluto como en porcentaje, ya que el 14,6% de su población extranjera es subsahariana. Humanes de Madrid es el municipio con menor número absoluto (395 subsaharianos) pero representan el 12,10% de su población extranjera. Las nacionalidades más frecuentes en todos los municipios son Nigeria y Guinea Ecuatorial. Tabla 2.

Descripción de las personas infectadas con VIH en los municipios del brote

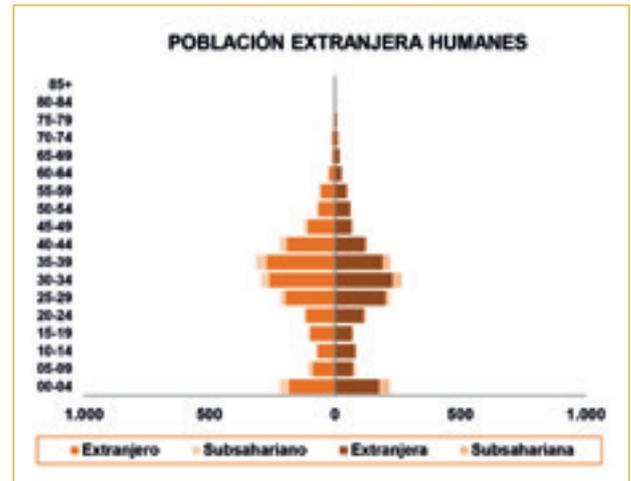
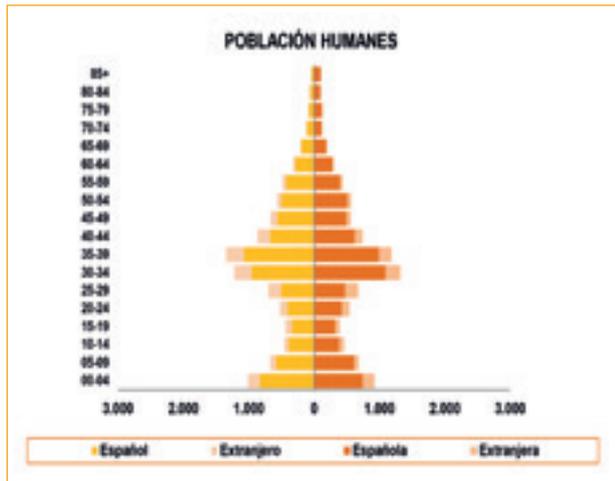
El registro de VIH/sida de la Comunidad de Madrid vigila dicha enfermedad desde el inicio de la epidemia de VIH. Además, desde el año 2010 es



Figuras 5 y 6. Municipio de Fuenlabrada: Pirámide de población por país de nacimiento según origen español vs extranjero y pirámide de población extranjera por país de nacimiento según países subsaharianos vs resto de países.
Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.

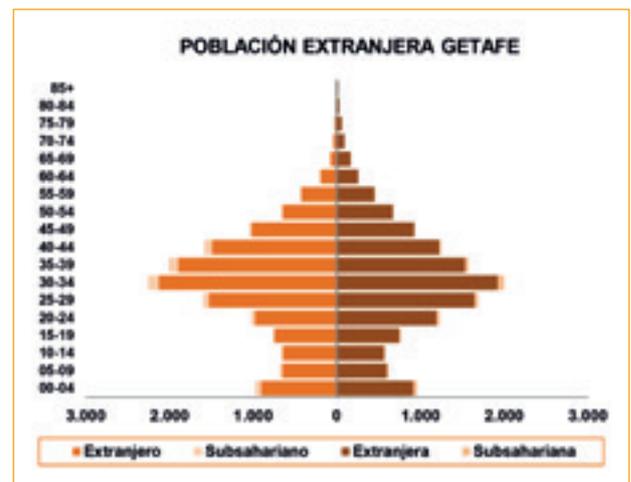
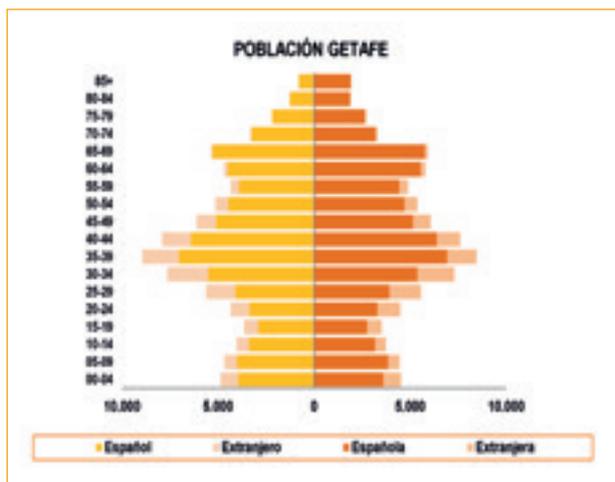


Figuras 7 y 8. Municipio de Leganés: Pirámide de población por país de nacimiento según origen español vs extranjero y pirámide de población extranjera por país de nacimiento según países subsaharianos vs resto de países.
Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.



Figuras 9 y 10. Municipio de Humanes de Madrid: Pirámide de población por país de nacimiento según origen español vs extranjero y pirámide de población extranjera por país de nacimiento según países subsaharianos vs resto de países.

Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.



Figuras 11 y 12. Municipio de Getafe: Pirámide de población por país de nacimiento según origen español vs extranjero y pirámide de población extranjera por país de nacimiento según países subsaharianos vs resto de países.

Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.

Tabla 2

NÚMERO Y PORCENTAJE DE POBLACIÓN EXTRANJERA Y SUBSAHARIANA POR MUNICIPIO DE RESIDENCIA

MUNICIPIOS	POBLACIÓN ESPAÑOLA	POBLACIÓN EXTRANJERA % EXTRANJEROS	POBLACIÓN SUBSAHARIANA		
	Nº	Nº	%*	Nº	%**
Fuenlabrada	171.994	25.526	12,9	3.725	14,6
Humanes de Madrid	16.000	3.248	16,9	395	12,2
Leganés	164.894	22.101	11,8	1.330	6,0
Getafe	146.124	26.402	15,3	995	3,7

Fuente: Padrón continuo, población a 1 de enero de 2013.

*Porcentaje de población extranjera con respecto a población total.

**Porcentaje de población subsahariana con respecto a población extranjera.

obligatoria la notificación de todas las infecciones por VIH. Se registra el código postal del domicilio de los casos en el momento del diagnóstico de la infección por VIH, realizándose un seguimiento anual del caso hasta que la persona fallece o se traslada a otra Comunidad Autónoma.

En la tabla 3 se muestra el número de personas por municipio de residencia y sexo que viven con VIH/sida y residen en la zona del brote a 31 de diciembre de cada año. En todos los municipios aumenta el número total de personas infectadas cada año, alcanzando un total de 912 a final de 2013, tratándose de un subgrupo de población especialmente vulnerable a la coinfección con *Leishmania infantum*.

Características de los casos y factores de riesgo

La tasa de incidencia global es de 20,44 por 100.000 habitantes. Desagregando por sexo, los hombres son los más afectados con 25,27 casos por 100.000 habitantes frente a 15,69 en mujeres. La tasa

mayor corresponde al municipio de Fuenlabrada, tanto para las formas viscerales como cutáneas y por grupos de edad de nuevo las tasas más elevadas se observan en este municipio (tablas 4 y 5).

Las tasas de leishmaniasis visceral predominan en los menores de 2 años y en varones. La leishmaniasis cutánea en general también es más frecuente en hombres, aunque a partir de los 50 años predomina en mujeres, patrón que se observa en todos los municipios afectados (tablas 4 y 5).

De los 584 casos asociados al brote, el 84,6% son nacidos en España y entre los extranjeros predominan los originarios de África subsahariana occidental (tabla 6). Con más detalle, la población subsahariana tiene un 91,0% de formas viscerales frente al 31,1% del resto de nacionalidades (españoles y no subsaharianos). Como en este grupo las formas cutáneas son muy poco frecuentes, ya que sólo se han notificado 6 casos, se analizan las formas viscerales con mayor detalle.

Tabla 3

NÚMERO DE PERSONAS QUE VIVEN CON INFECCIÓN VIH POR MUNICIPIO DE RESIDENCIA, 2009-2013

	FUENLABRADA		HUMANES DE MADRID		LEGANÉS		GETAFE	
	HOMBRES	MUJERES	HOMBRES	MUJERES	HOMBRES	MUJERES	HOMBRES	MUJERES
2009	197	88	14	5	163	62	154	61
2010	206	92	18	5	176	69	165	61
2011	218	98	17	6	191	73	168	67
2012	235	102	15	6	205	74	175	68
2013	248	106	17	6	208	74	182	71

Fuente: Registro de VIH/sida de la Comunidad de Madrid.

Tabla 4

LEISHMANIASIS VISCERAL: NÚMERO, PORCENTAJE Y TASAS POR GRUPOS DE EDAD Y SEXO SEGÚN MUNICIPIO DE RESIDENCIA. BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID, JULIO 2009 - JULIO 2014

Edad	FUENLABRADA						LEGANÉS						GETAFE						HUMANES						TOTAL								
	Hombre			Mujer			Hombre			Mujer			Hombre			Mujer			Hombre			Mujer			Hombre			Mujer			TOTAL		
	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Tasa				
<2 años	10	9,3	89,6	6	12,8	56,9	5	18,5	49,2	4	36,4	40,9	2	10	21,3	1	16,7	11,3	0	0	0	1	50	53,8	17	10,9	51,9	12	18,2	38,7	29	45,44	
2 a 14 años	7	6,5	9,39	8	17	11,4	0	0	0	3	27,3	5,44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	4,5	3,54	11	16,7	5,9	18	222
15 a 29	14	13,1	13,6	5	10,6	5,08	3	11,1	3,9	1	9,1	1,33	1	5	1,42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	11,5	6,95	6	9,1	2,39	24	4,7	
30 a 39	19	17,8	20,3	5	10,6	5,56	4	14,8	4,43	0	0	0	3	15	3,6	0	0	0	1	50	7,65	0	0	0	27	17,3	9,64	5	7,6	1,87	32	5,85	
40 a 49	21	19,6	25,8	8	17	9,73	4	14,8	5,8	0	0	0	3	15	4,47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	17,9	12,5	8	12,1	3,6	36	8,06	
50 a 59	19	17,8	25,1	7	14,9	8,75	0	0	0	1	9,1	1,71	2	10	4,33	2	33,3	3,93	1	50	19,8	0	0	0	22	14,1	12,4	10	15,2	5,15	32	8,61	
60 a 69	12	11,2	33,2	5	10,6	14,9	5	18,5	8,43	0	0	0	6	30	11,9	1	16,7	1,76	0	0	0	1	50	43,2	23	14,7	15,5	7	10,6	4,39	30	9,75	
70 y más	5	4,7	28,4	3	6,4	11,4	6	22,2	14,2	2	18,2	3,69	3	15	8,54	2	33,3	4,28	0	0	0	0	0	0	14	9,0	14,5	7	10,6	5,4	21	9,29	
Total	107	69,5	21,7	47	30,5	9,57	27	71,1	5,91	11	28,9	2,32	20	76,9	4,77	6	23,1	1,4	2	50	4,14	2	50	4,31	156	70,3	11	66	30	4,58	222	7,77	

Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria de la Comunidad de Madrid y padrón municipal continuo.

Tabla 5

LEISHMANIASIS CUTÁNEA: NÚMERO, PORCENTAJE Y TASAS POR GRUPOS DE EDAD Y SEXO
SEGÚN MUNICIPIO DE RESIDENCIA. BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA
COMUNIDAD DE MADRID, JULIO 2009 - JULIO 2014

Edad	FUENLABRADA			LEGANÉS			GETAFE			HUMANES			TOTAL																						
	Hombre		Mujer	Hombre		Mujer	Hombre		Mujer	Hombre		Mujer	Hombre		Mujer		TOTAL																		
	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa	Número	Porcentaje	Tasa																	
<2 años	3	1,7	26,9	2	1,4	19	0	0,0	0	0,0	0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	3	1,5	9,15	2	1,3	6,44	5	7,83							
2 a 14 años	17	9,7	22,8	12	8,6	17,1	3	18,8	5,15	2	25,0	3,63	1	12,5	1,77	3	30,0	5,64	0	0,0	0	1	50,0	12,4	21	10,4	10,6	18	11,3	9,65	39	10,15			
15 a 29	14	8,0	13,6	10	7,1	10,2	0	0,0	0	0	0,0	0	0	0,0	0	0	0,0	0	0,0	0	0	0,0	0	0	0,0	0	14	6,9	5,4	10	6,3	3,98	24	4,7	
30 a 39	27	15,3	28,9	13	9,3	14,5	5	31,3	5,54	1	12,5	1,17	1	12,5	1,2	0	0,0	0	0,0	0	0	0,0	0	0	0,0	0	33	16,3	11,8	14	8,8	5,25	47	8,59	
40 a 49	35	19,9	43,1	20	14,3	24,3	1	6,3	1,45	2	25,0	2,91	1	12,5	1,49	0	0,0	0	0,0	0	0	0,0	0	0	0,0	0	37	18,3	16,5	22	13,8	9,9	59	13,2	
50 a 59	48	27,3	63,5	48	34,3	60	3	18,8	5,9	0	0,0	0	3	37,5	6,5	3	30,0	5,9	1	50,0	19,8	1	50,0	21,3	55	27,2	31	52	32,5	26,8	107	28,79			
60 a 69	23	13,1	63,6	25	17,9	74,6	1	6,3	1,69	3	37,5	4,5	1	12,5	1,98	3	30,0	5,27	0	0,0	0	0	0,0	0	0	0,0	0	25	12,4	16,8	31	19,4	19,5	56	18,19
70 y más	9	5,1	51,2	10	7,1	37,9	3	18,8	7,1	0	0,0	0	1	12,5	2,85	1	10,0	2,14	1	50,0	66	0	0,0	0	14	6,9	14,5	11	6,9	8,49	25	11,06			
Total	176	55,7	35,7	140	44,3	28,5	16	66,7	3,5	8	33,3	1,69	8	44,4	1,91	10	55,6	2,33	2	50,0	4,14	2	50,0	4,31	202	55,8	14,3	160	44,2	11,1	362	12,87			

Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria de la Comunidad de Madrid y padrón municipal continuo.

Tabla 6

LEISHMANIASIS VISCERAL EN PERSONAS CON NACIONALIDAD SUBSAHARIANA:
CASOS Y TASAS POR 100.000 HABITANTES SEGÚN EDAD Y SEXO

Edad	LEISHMANIASIS VISCERAL					
	Hombre		Mujer		TOTAL	
	Número	Tasa	Número	Tasa	Número	Tasa
<2 años	4	574,92	1	157,48	5	375,73
2 a 14 años	4	222,81	8	440,29	12	332,2
15 a 29	8	403,63	5	196,39	13	287,1
30 a 39	16	357,12	2	61,56	18	232,89
40 a 49	5	249,63	2	269,36	7	254,96
50 y más	3	709,64	3	437,8	6	541,52
TOTAL	40	351,52	21	217,07	61	289,74

Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria de la Comunidad de Madrid y padrón municipal continuo.

La figura 13 muestra de forma comparada los casos y las tasas de leishmaniasis visceral en personas subsaharianas respecto al resto, resultando muy superiores las tasas en este grupo de población en todos los municipios excepto en Humanes de Madrid, donde no hay ningún caso, lo que supone una tasa de 289,74 casos por 100.000 habitantes frente al resto de la población que es de 4,40. La tasa más alta se encuentra en Fuenlabrada, donde es 25 veces mayor para subsaharianos que para el resto de la población. Al analizar por tramos de edad, destacan especialmente los niños menores de 2 años, con una tasa de 375,7 por 100.000 habitantes. La mayoría de los casos son de Guinea Ecuatorial y Nigeria con 36 y 22 casos, respectivamente. El resto se reparten entre Camerún, República del Congo y Angola.

Del total de casos, en el 16,1% se ha recogido la existencia de algún factor de riesgo intrínseco que disminuye la inmunidad. En la tabla 7 se presenta la distribución de los mismos. El tratamiento inmunosupresor, otras enfermedades inmunosupresoras diferentes al VIH y la diabetes están presentes como principales factores para ambas formas clínicas, aunque es la forma visceral la que muestra porcentajes más altos.

En cuanto a la coinfección con VIH, se encuentran 19 casos con esta patología asociada. El 89,5% son hombres y el rango de edad se encuentra entre los 25 y los 53 años. En cuanto al país de origen, 12 son españoles (63,2%), 4 son subsaharianos (21,1%) y 3 tienen otros países de procedencia (15,8%). Han aparecido entre los años 2010 a 2013 y sólo dos casos presentan formas cutáneas. La tasa global es de

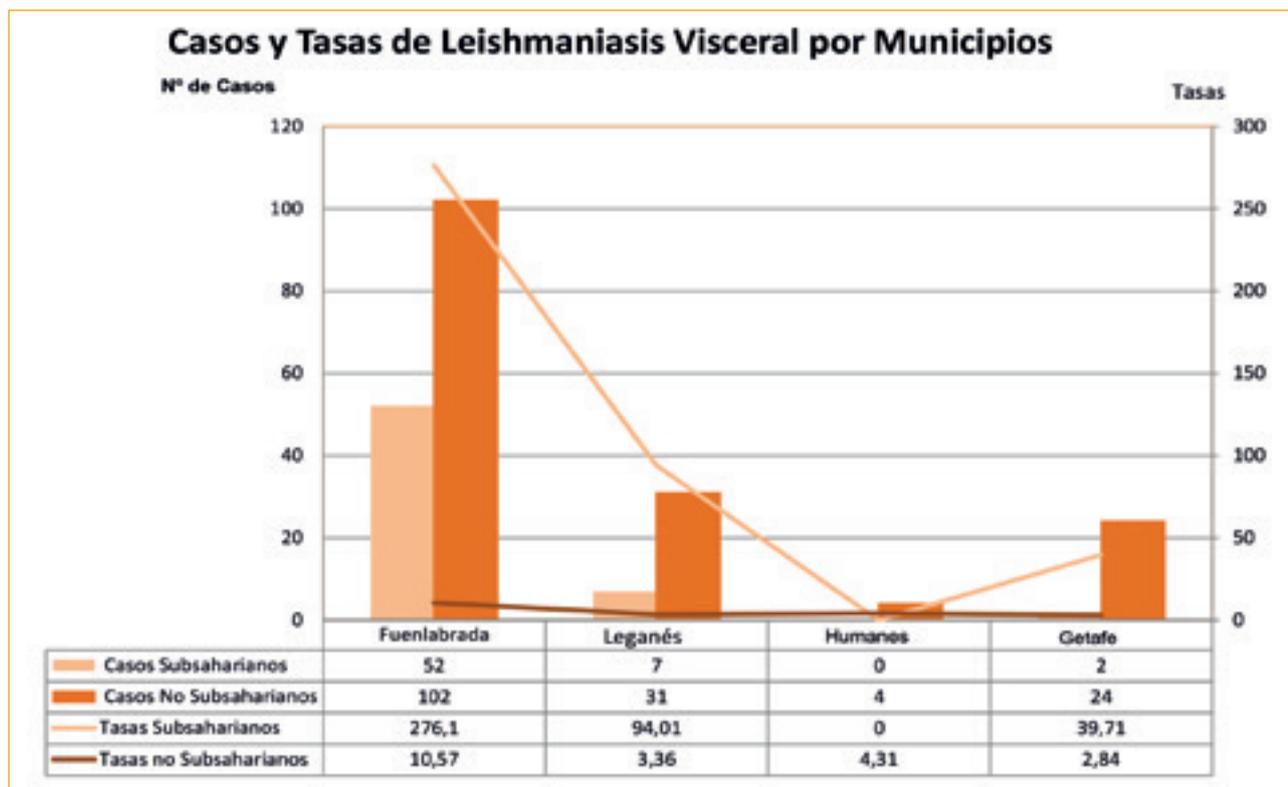


Figura 13. Casos y tasas por 100.000 habitantes de leishmaniasis visceral por municipios según nacionalidad agrupada.

Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria de la Comunidad de Madrid y padrón municipal continuo.*

456,07 casos por 100.000 habitantes, siendo mayor en hombres (572,0) que en mujeres (167,5).

Manifestaciones clínicas y evolución

Las manifestaciones clínicas de las formas viscerales se describen en la tabla 8. Las más frecuentes son fiebre (78,8%), esplenomegalia (70,3%) y alteraciones hematopoyéticas, que coinciden con las definitorias de caso. Dentro de las formas viscerales se incluyen 31 casos considerados atípicos, 21 hombres y 10 mujeres, con edades comprendidas entre 22 y 77 años (mediana 55 años), siendo sólo uno de ellos subsahariano. Las formas clínicas aparecidas son: un caso traqueal, otro traqueobronquial, otro con glomerulonefritis y el resto ganglionares. De estos últimos sólo 4 presentaron lesión cutánea asociada, la localización ganglionar predominante ha sido cervical y mayoritariamente tuvieron buena evolución.

Las formas mucocutáneas representan cuatro casos con las siguientes localizaciones: tabique nasal, vestíbulo nasal, cornetes y comisura bucal. Tienen una evolución más tórpida y necesitan de técnicas diagnósticas y terapéuticas más agresivas.

En la presentación de las formas cutáneas se han presentado con lesión única en un 53,6% de los casos, y el resto con lesiones múltiples presentes en zonas fotoexpuestas (brazos, manos, piernas, muslos, cara, etc.).

Tabla 8

DISTRIBUCIÓN DE LAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LOS CASOS VISCERALES BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID, JULIO 2009 - JUNIO 2014

	FORMAS VISCERALES	
	N	%
Fiebre	175	78,8
Pérdida de peso	52	23,4
Malestar general	115	51,8
Anorexia	64	28,8
Esplenomegalia	156	70,3
Hepatomegalia	87	39,2
Adenopatías	47	21,2
Lesión cutánea	8	3,6
Lesión mucosa	3	1,4
Anemia	155	69,8
Leucopenia	155	69,8
Trombopenia	145	65,3
Alteraciones de la coagulación	36	16,2
Alteración enzimas hepáticas	66	29,7
TOTAL	222	100

Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria. Encuesta epidemiológica ampliada.*

En general, los pacientes han presentado buena evolución con el tratamiento específico, a excepción de diez pacientes con leishmaniasis visceral que han fallecido por comorbilidad previa. Estos últimos eran varones con rango de edad de 38 a 65 años (mediana 52), con antecedente de VIH en 3 casos y el resto con otras patologías de base.

Se han recogido complicaciones debidas al tratamiento en 49 casos de *L. visceral*, siendo la insuficiencia renal en distintos grados la complicación más frecuente (69,4%). En la forma cutánea únicamente 8 casos han presentado algún tipo de complicación por el tratamiento como reacción local, cicatriz, celulitis y tromboflebitis. En relación a las complicaciones debidas al propio proceso de la enfermedad, es de nuevo la forma visceral la más numerosa con 37 casos que han presentado síndrome hemofagocítico, desnutrición proteica, coinfección asociada, fracaso renal agudo e infarto esplénico. Las complicaciones por el proceso de la *L. cutánea* han aparecido en 8 casos en forma de nódulos, no respuesta al tratamiento e induración.

Características de los factores de riesgo ambientales

A través de la encuesta epidemiológica ampliada se ha recogido la existencia de factores de riesgo

ambientales. Se ha analizado la información referida al perro como animal doméstico, teniendo en cuenta su implicación en el ciclo clásico de la enfermedad. Conviven con perros en el domicilio el 20,4% de los casos, durmiendo al aire libre menos del 14%, no usan ningún tipo de repelente externo menos del 12%. A la mitad de ellos se le ha realizado la prueba de leishmaniasis en el veterinario, siendo más habitual la realización del test diagnóstico canino cuando el dueño es enfermo de leishmaniasis visceral. Aproximadamente uno de cada cinco casos encuestados tiene otra mascota distinta al perro en su domicilio, sobre todo gatos y pájaros (tabla 9). Los resultados del análisis de factores relacionados con la exposición al vector en la vivienda y en actividades de ocio se muestran en la tabla 10. La altura de la vivienda de los casos se distribuye aproximadamente un tercio en casa baja o primera planta, algo más de otro tercio en alturas intermedias y otro tercio en pisos altos (5º y superiores); el 78,2% tienen jardín propio o comunitario o terraza en el domicilio. El 21,9% de los casos detecta la presencia de insectos/mosquitos en el entorno de su vivienda pero el 56% de las personas afectadas nunca usa insecticida dentro de su habitación, sólo el 10,7% tiene instaladas algún tipo de mosquiteras en las ventanas, y apenas un 2% se aplica repelente cuando sale a la calle.

Tabla 9

FACTORES DE RIESGO AMBIENTALES RELACIONADOS CON EL RESERVORIO CLÁSICO. BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID, JULIO 2009 - JUNIO 2014

	FORMAS VISCERALES		FORMAS CUTÁNEAS		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
Perro en domicilio	175	41,5	247	58,5	422	72,3
Sí	39	22,3	47	19	86	20,4
No	136	77,7	200	81	336	79,6
Cuidado del perro*						
Duerme al aire libre	33	45,8	39	54,2	72	83,7
Nunca o casi nunca	28	84,8	34	87,2	62	86,1
Habitualmente	5	15,2	5	12,8	10	13,9
Uso de repelentes externos	33	47,1	37	52,9	70	81,4
Nunca o casi nunca	4	12,1	4	10,8	8	11,4
Habitualmente	29	87,9	33	89,2	62	88,6
Prueba de leishmaniasis	30	43,5	39	56,5	69	80,2
Realizada	18	60	16	41	34	49,3
No realizada	12	40	23	59	35	50,7
Otra mascota en casa	167	41,1	239	58,9	406	69,5
Sí	24	14,4	50	20,9	74	18,2
No	143	85,6	189	79,1	332	81,8

En la línea sombreada se recoge el número total de casos con información para cada variable, los porcentajes de las categorías se calculan sobre ese total.

*Los porcentajes de la columna "Total" de la distribución de las variables relacionadas con el cuidado del perro se calculan sobre los 86 casos que tienen perro.

Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria. Encuesta epidemiológica ampliada.*

Tabla 10

DISTRIBUCIÓN DE LOS CASOS SEGÚN FORMA DE PRESENTACIÓN, CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LA VIVIENDA Y MEDIDAS DE PROTECCIÓN ANTE PICADURAS. BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID, JULIO 2009 - JUNIO 2014

	FORMAS VISCERALES		FORMAS CUTÁNEAS		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
Altura de la vivienda	221	37,9	362	62,1	583	99,8
Casa baja, bajo o 1°	84	38	103	28,5	187	32,1
2° a 4°	80	36,2	138	38,1	218	37,4
5° o superior	57	25,8	121	33,4	178	30,5
Jardín o terraza	157	40,3	233	59,7	390	66,8
Sí	116	73,9	189	81,1	305	78,2
No	41	26,1	44	18,9	85	21,8
Insecticidas en dormitorios	148	39,5	222	60,5	375	64,2
Esporádico o habitual	51	34,5	114	50,2	165	44
Nunca o casi nunca	97	65,5	113	49,8	210	56
Uso de aire acondicionado	150	39,8	227	60,2	377	64,6
Esporádico o habitual	19	12,7	45	19,8	64	17
Nunca o casi nunca	131	87,3	182	80,2	313	83
Uso de ventilador	148	38,9	232	61,1	380	65,1
Esporádico o habitual	29	19,6	48	20,7	77	20,3
Nunca o casi nunca	119	80,4	184	79,3	303	79,7
Dormir con ventana cerrada	145	39	227	61	372	63,7
Esporádico o habitual	38	26,2	21	9,3	59	15,9
Nunca o casi nunca	107	73,8	206	90,7	313	84,1
Mosquiteras en ventanas	151	39,6	230	60,4	381	65,2
Mosquiteras de malla fina	15	9,9	13	5,7	28	7,3
Mosquiteras de malla gruesa	3	2	10	4,3	13	3,4
No	133	88,1	207	90	340	89,2
Repelentes en paseos	129	37	220	63	349	
Sí	3	2,3	4	1,8	7	2
No	126	97,7	216	98,2	342	98
Mosquitos en el entorno	222	38	362	62	584	
Sí	48	21,6	80	22,1	128	21,9
No	174	78,4	282	77,9	456	78,1
Restos poda o escombros	222	38	362	62	584	
Sí	13	5,9	19	5,2	32	5,5
No	209	94,1	343	94,8	552	94,5
Explotaciones ganaderas	222	38	362	62	584	
Sí	6	2,7	10	2,8	16	2,7
No	216	97,3	352	97,2	568	97,3
Trabajo de riesgo	62	33,5	123	66,5	185	
Sí	1	1,6	9	7,3	10	5,4
No	61	98,4	114	92,7	175	94,6
Actividades al aire libre	166	40,8	241	59,2	407	
Sí	122	73,5	197	81,7	319	78,4
No	44	26,5	44	18,3	88	21,6

En la línea sombreada se recoge el número total de casos con información para cada variable, los porcentajes de las categorías se calculan sobre ese total.

Fuente: *Enfermedades de Declaración Obligatoria. Encuesta epidemiológica ampliada.*

Discusión y conclusiones

Se describe el mayor brote causado por *Leishmania infantum* de la cuenca mediterránea que se ha concentrado en la zona suroeste de la CM y especialmente en Fuenlabrada, que es una zona urbana densamente poblada. Se ha encontrado una tasa global de 20,44 casos por cien mil habitantes, dato muy superior a los descritos en otros estudios de leishmaniasis en humanos, tanto nacionales como en países europeos^{2,13,14,15} que describen la incidencia basal. Se han encontrado tasas superiores a este brote en el ocurrido en Ma'ale Ad-umim, ciudad a las afueras de Jerusalén, durante 2004-2005. Se trata de formas cutáneas por *L. tropica*, en la que se describen como factores explicativos el rápido desarrollo urbanístico, la abundancia de vectores en la zona y la presencia de unos pequeños mamíferos (*Hyraxes*), posiblemente infectados actuando como reservorio y muy cercanos a la población⁴. En el brote de Israel, al igual que en este de la CM, se contempla un ciclo selvático de transmisión de la enfermedad en zonas muy cercanas a ciudades densamente pobladas. De hecho las tasas superiores se concentran en el municipio de Fuenlabrada, que es el más cercano a los parques en los que las liebres y los conejos, nuevo reservorio descrito, vivían en altas concentraciones y sin depredadores al comienzo del brote¹⁵.

Los factores de riesgo encontrados en este brote son concordantes con los descritos en la literatura, como son: predominancia de sexo masculino, edad temprana de la vida, coinfección con VIH y presencia de otros factores de inmunosupresión^{13,14,15}. También, como está descrito en la literatura, el grupo de niños de menor edad es el que presenta las tasas más altas, pero al tratarse de un brote de alta intensidad también el resto de grupos de edad muestran tasas elevadas, superiores a las del resto de la CM (tal y como se muestra en el artículo de la presente publicación "Situación de la leishmaniasis en la CM" de Ordoñas *et al.*) y con afectación de personas previamente sanas. La población coinfectada con VIH presenta tasas muy altas a expensas de las formas viscerales, tal y como ya se conoce en la bibliografía^{1,10}, básicamente durante los años 2010 al 2013, periodo de mayor actividad del brote. Probablemente la población con VIH se ha infectado con leishmania durante este tiempo, pero los casos clínicos han ocurrido entre aquellos que tenían menor número de linfocitos CD₄. La exhaustividad en el seguimiento clínico de los pacientes de esta zona influye en que no hayan aparecido más casos después.

Llama la atención en este brote la alta incidencia de las formas viscerales encontrada en la población procedente de países de África Subsahariana occidental, que podría explicarse por el hecho de tratarse de una población *naive*. En sus países de origen, la *Leishmania infantum* no está presente y no se han expuesto hasta llegar a España, por lo que podrían pre-

sentar mayor susceptibilidad a enfermar en la forma visceral. Tanto Nigeria como Guinea Ecuatorial tienen presencia de *L. major* con formas cutáneas¹. Además, en todas las muestras en las que se analiza la subespecie se ha identificado *L. infantum*¹⁷ por lo que ninguno de los casos del brote se ha considerado importado.

Sin embargo, este hecho no explica las diferencias encontradas en los menores de dos años, con tasas de 375,73 en niños con ascendencia subsahariana frente al resto con 37,60 casos por 100.000 habitantes, ya que al nacer todos los casos en la Comunidad de Madrid se presupone tienen similar exposición al vector. Por todo ello se plantea una nueva hipótesis que habrá que esclarecer con otros estudios que expliquen si esta mayor predisposición a desarrollar formas viscerales de la población subsahariana está relacionada con alguna alteración genética o con algún otro factor relacionado con la raza negra.

Dentro de las limitaciones de este estudio está el uso de la nacionalidad vs país de origen en el cálculo de las tasas en población subsahariana: se han estudiado los datos para los denominadores de forma diferenciada con ambas variables, encontrándose que el mejor acercamiento a la población que se quiere estudiar se obtiene con la nacionalidad; con ésta se contabilizan separadamente todos los niños nacidos en España cuyas familias tienen origen africano y en las edades adultas el número es bastante similar. Una aproximación a un estudio en población de raza negra sería lo más deseable, pero actualmente no se dispone como variable en el estudio, y la modificación en las fuentes de origen de los datos se presenta como una dificultad mayor.

La clínica de las formas viscerales es la habitualmente descrita en la literatura, aunque se han encontrado numerosas formas ganglionares. En la leishmaniasis cutánea difiere en cuanto que muchos de los casos presentan lesiones múltiples, aunque se mantiene la localización de las zonas del cuerpo no cubiertas.

Las actividades de ocio, el tipo de vivienda, las medidas de protección frente a picaduras y el resto de factores investigados no han demostrado ser aspectos influyentes en el proceso de enfermar. Las zonas de paseo investigadas y otras actividades lúdicas durante las horas de riesgo de exposición al vector están muy dispersas por toda la zona geográfica del brote, no encontrándose agregaciones en ninguna zona concreta. Tampoco hay diferencias entre los anteriores factores ni otras características ambientales entre la población subsahariana y el resto. Al no observarse ningún nexo de unión con actividades realizadas en el exterior de la vivienda, se esperaba que el riesgo estuviera relacionado con la altura de la misma por el hecho de que el vuelo en altura del vector es corto; sin embargo, los pacientes se distribuyen en distintas plantas viviendo un 70% de los casos por encima del segundo piso.

Los casos no han realizado viajes a otras zonas

del mundo con alta endemia, siendo la mayoría de los desplazamientos a diversos puntos de la costa mediterránea dentro del territorio español.

Aunque el 56% de los encuestados refieren presencia de insectos parecidos a los mosquitos en su vivienda y alrededores, muy pocos se protegen frente a los mismos, lo que puede reflejar la falta de percepción de riesgo de la zona en la que viven. Este hecho se debería tener en cuenta para redirigir los objetivos de las futuras campañas poblacionales de prevención de esta enfermedad.

Como la encuesta ampliada que investiga factores relacionados con exposición ambiental al vector (ocio, trabajo, etc.) se realiza preguntando por las

actividades realizadas la temporada de riesgo (verano principalmente) anterior al inicio de los síntomas, seguramente se introduzca el sesgo de memoria en el estudio que minimice el detalle de las zonas concretas de exposición.

A pesar de no observarse ningún factor de riesgo de exposición al vector ni relacionado con el reservorio, se puede concluir que nos encontramos ante el mayor brote de leishmaniasis a nivel europeo. Y aunque pueda existir un refuerzo de la vigilancia epidemiológica y un sobrediagnóstico especialmente en las formas cutáneas en toda la zona del brote, esto no explica por sí sólo el aumento de la incidencia observada.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 World Health Organization (WHO). Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010. Geneva: WHO; 2010. WHO technical report series; no.949. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_949_eng.pdf
- 2 Suarez B, Isidoro B, Santos S, Sierra MJ, Molina R, Astray J, et al. Situación epidemiológica y de los factores de riesgo de transmisión de *Leishmania Infantum* en España. *Rev Esp Salud Pública*. 2012; 86(6):555-564.
- 3 Coaquira Toro, JR. Prevalencia y factores de riesgo que condicionan la transmisión de la leishmaniasis en el distrito de San Pedro de Putina Punco, Sandia, Perú- 2011. Monografía.
- 4 Singer SR, Abramson N, Shoob H, Zaken O, Zentner G, Stein-Zamir C. Ecoepidemiology of cutaneous leishmaniasis outbreak, Israel. *Emerg Infect Dis*. 2008;7: 1424-1426.
- 5 Zorrilla V, Agüero M, Cáceres A, Tejada A, Ticlla J, Martínez R. Factores de riesgo que determinan la transmisión de la leishmaniasis en el valle Llaucano, Chota-Cajamarca. *An Fac Med Lima* 2005; 66(1): 33-42.
- 6 de Beer P, el Harith A, Deng LL, Semiao-Santos SJ, Chantal B, et al. (1991) A killing disease epidemic among displaced Sudanese population identified as visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 44: 283-289.
- 7 Epidemiology of visceral leishmaniasis in Atbara River area, eastern Sudan: the outbreak of Barbar El Fugara village (1996-1997). Sayda Hassan EL-Safi, Bruno Bucheton, Musa Mohamed Kheir, Hassan Abdel Aziz Musa, Moawia EL-Obaid, Awad Hammad, Alain Dessein. *Microbes Infect*. 2002 November; 4(14): 1439-1447.
- 8 Risk Factors for Visceral Leishmaniasis in a New Epidemic Site in Amhara Region, Ethiopia. Bashaye S, Nombela N, Argaw D, Mulugeta A, Herrero M, Nieto J, Chicharro C, Cañavate C, Aparicio P, Vélez ID, Alvar J, Bern C. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 81(1), 2009, pp. 34-39.
- 9 Natural History of a Visceral Leishmaniasis Outbreak in Highland Ethiopia. Herrero M, Orfanos G, Argaw D, Mulugeta, Aparicio P, Parreño F et al. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 81(3), 2009, pp. 373-377.
- 10 Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, et al. The Relationship between Leishmaniasis and AIDS: the Second 10 Years. *Clinical Microbiology Reviews* 2008; 21(2):334-359. doi:10.1128/CMR.00061-07.
- 11 Arce A, Estirado A, Ordobás M, Sevilla S, García N, Moratilla L, de la Fuente S, Martínez AM, Pérez AM, Aránguez E, Iriso A, Sevillano O, Bernal J, Vilas F. Re-emergence of leishmaniasis in Spain: community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill*. 2013;18(30):pii=20546. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20546>
- 12 Leishmaniasis en la Comunidad de Madrid. Documentos Técnicos de la Comunidad de Madrid. Subdirección de Promoción de la Salud y Prevención. D.G. de Atención Primaria. Madrid, junio de 2014. p44-49.
- 13 Gkolfinopoulou K, Bitsolas N, Patrinos S, Veneti L, Marka A, Dougas G, Pervanidou D, Detsis M, Triantafyllou E, Georgakopoulou T, Billinis C, Kremastinou J, Hadjichristodoulou C. Epidemiology of human leishmaniasis in Greece, 1981-2011. *Euro Surveill*. 2013;18(29):pii=20532. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20532>
- 14 Gramiccia M, Scalone A, Di Muccio T, Orsini S, Fiorentino E, Gradoni L. The burden of visceral leishmaniasis in Italy from 1982 to 2012: a retrospective analysis of the multi-annual epidemic that occurred from 1989 to 2009. *Euro Surveill*. 2013;18(29):pii=20535. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20535>
- 15 Harizanov R, Rainova I, Tzvetkova N, Kaftandjiev I, Bikov I, Mikov O. Geographical distribution and epidemiological characteristics of visceral leishmaniasis in Bulgaria, 1988 to 2012. *Euro Surveill*. 2013;18(29):pii=20531. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20531>
- 16 Aránguez Ruiz E, Arce Arnáez A, Moratilla Monzo L, Estirado Gómez A, Iriso Calle A, De la Fuente Ureña S, Soto Zabalgoceazcoa MJ, Fuster Lorán F, Ordobás Gavín M, Martínez Serrano AM, Vilas Herranz F. Análisis espacial de un brote de leishmaniasis en el sur del área metropolitana de la Comunidad de Madrid. 2009-2013. *Rev salud ambient*. 2014;14(1):39-53.
- 17 Chicharro C, Llanes-Acevedo IP, García E, Nieto J, Moreno J, Cruz I. Molecular typing of *Leishmania infantum* isolates from a leishmaniasis outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill*. 2013;18(30):pii=20545. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20545>

BROTE DE LEISHMANIASIS EN LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID: EVOLUCIÓN POR TEMPORADA EPIDEMIOLÓGICA

Alicia Estirado, Araceli Arce, María Ordobás, Natividad García, Laura Moratilla, Ana M^a Pérez y Emiliano Aranguéz

Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Resumen

Se está produciendo un brote de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid desde julio de 2009; el objetivo de este estudio es conocer su evolución.

Estudio descriptivo de la evolución de los casos del brote de leishmaniasis. Variables de estudio: temporada de inicio de síntomas, forma de presentación clínica, sexo, edad, país de origen, municipio de residencia, factores de riesgo intrínsecos y ambientales y demora en la notificación.

Se han notificado 584 casos desde 2009 hasta 2014: 27, 173, 206, 91 y 87 casos, según temporada. La leishmaniasis cutánea disminuye en las temporadas 4 y 5. La distribución por sexo y edad se mantiene estable, destaca el aumento de casos viscerales pediátricos en la última temporada. No se aprecian diferencias con la evolución según país, municipio y factores de riesgo intrínseco, sí se encuentra disminución de la presencia en el entorno de los casos de perros, perros enfermos y explotaciones ganaderas. Más del 90% de casos en subsaharianos presentan leishmaniasis visceral, sin descenso del número de casos. La demora disminuye (de 346 a 102 días), con mínimo de 49 días en viscerales en global (25 en edad pediátrica y 29 en subsaharianos). Fuenlabrada es el municipio con mayor número de casos, el foco se ha desplazado de la zona norte hacia el interior.

La intensificación de las medidas de intervención ambiental ha influido en el descenso de la

magnitud del brote a partir de la cuarta temporada. Han disminuido las formas cutáneas, factores de riesgo ambiental y demora, aunque no se han encontrado cambios en las características propias de los casos que contribuyan a explicar la evolución del brote.

Introducción

La leishmaniasis es una enfermedad zoonótica causada por protozoos del género *Leishmania* que se transmite por la picadura de la hembra del díptero *Phlebotomus* y en la que los reservorios suelen ser tanto animales domésticos como salvajes. Es una enfermedad endémica en 98 países o territorios que puede presentarse como casos aislados en los territorios afectados pero en ocasiones se presenta en olas epidémicas¹. La leishmaniasis ha sido endémica en el sur de Europa durante décadas, la mayoría de los casos notificados corresponden a leishmaniasis visceral, de mayor gravedad e incluso letal sin tratamiento, pero también está presente la leishmaniasis cutánea. Las tasas de incidencia (TI) en estos países son inferiores a 0,5 casos por 100.000 habitantes, aunque si se incluye Turquía la TI llega a 8,5 casos por 100.000 habitantes.² Se ha detectado la existencia de brotes de leishmaniasis en diferentes lugares como Sudán, India, Etiopía o Brasil y, con menor frecuencia, en países de nuestro entorno como es el caso de Italia³⁻⁶.

En España la mayoría de los casos están produ-

cidos por *L. infantum* y el reservorio tradicional ha sido el perro. Desde el año 1996 hasta el 2011, en nuestro país la TI media anual de casos notificados a la Red de Vigilancia Epidemiológica estuvo alrededor de 0,45 casos por 100.000 habitantes y la tasa media anual de hospitalización a partir del análisis del Conjunto Mínimo Básico de Datos al Alta Hospitalaria fue de 2,8 casos por 100.000 habitantes ⁷.

En la Comunidad de Madrid (CM) la leishmaniasis se vigila a través del sistema de vigilancia de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO). En la serie histórica de datos de vigilancia de la CM la incidencia de leishmaniasis se ha mantenido en niveles relativamente estables cercanos a 0,5 casos por 100.000 habitantes ⁸.

En el último trimestre de 2010 se detectó un aumento inusual de casos, cuya investigación llevó a la detección de un brote de leishmaniasis localizado en la zona suroeste de la CM que había comenzado en julio de 2009 y que permanece abierto en la actualidad ^{9,10}. El objetivo de este estudio es conocer la evolución de los casos de leishmaniasis asociados del brote según la temporada epidemiológica de inicio de síntomas.

Metodología

Estudio descriptivo de la evolución, según temporada epidemiológica de inicio de síntomas, de los casos de leishmaniasis asociados al brote comunitario de la zona suroeste de la CM notificados como EDO hasta el 1 de septiembre de 2014, con inicio de síntomas entre el 1 julio de 2009 y el 30 de junio de 2014. Se han analizado las siguientes variables: temporada epidemiológica de inicio de síntomas (de 1 de julio de un año al 30 de junio del año siguiente), forma de presentación clínica (agrupada en formas viscerales -que incluyen leishmaniasis visceral clásica, atípica y mucocutánea- y formas cutáneas), sexo, edad, país de origen (en los casos en edad pediátrica se ha tenido en cuenta el país de origen de los padres para la categorización de esta variable), municipio de residencia, factores de riesgo intrínsecos (padecer enfermedad inmunosupresora, estar en tratamiento inmunosupresor, ser usuario de drogas por vía parenteral, haber recibido alguna transfusión, alcoholismo), factores de riesgo ambientales (presencia en el entorno del caso de perros, perros enfermos, hábitats de mosquitos, explotaciones ganaderas y escombreras) y demora en la notificación (estimada como la diferencia entre la fecha de notificación y la fecha del inicio de los síntomas). Se ha establecido la siguiente definición de caso de leishmaniasis asociado al brote: persona enferma de leishmaniasis que cumple los criterios clínicos y de laboratorio definidos en el manual EDO ¹¹, con domicilio de residencia en los municipios de la zona suroeste de la CM y con fecha de inicio de síntomas entre el 1 de julio de 2009 y el 30 de junio de 2014.

Teniendo en cuenta los meses del año de mayor actividad del vector (de mayo a octubre) y los periodos de incubación de la enfermedad (entre uno y doce meses), se ha definido la temporada epidemiológica como el periodo comprendido entre el 1 de julio de un año y el 30 de junio del año siguiente; los casos se han agrupado según la fecha de inicio de síntomas en cinco temporadas.

Se analizan los casos de forma global y las formas viscerales y cutáneas de forma desagregada. Se analiza el subgrupo de casos en edad pediátrica y casos de origen subsahariano como poblaciones de especial interés. Se calculan porcentajes y se comparan las características de los casos según la temporada epidemiológica de inicio de síntomas mediante el test de χ^2 al 95% de confianza. El análisis estadístico se ha efectuado con el programa SPSS. Se han calculado tasas de incidencia por 100.000 habitantes. Se utiliza como denominador la población recogida en el padrón continuo publicado por el Instituto de Estadística de la CM.

Resultados

Se han notificado 584 casos asociados al brote con fecha de inicio de síntomas comprendida entre el 1 de julio de 2009 y el 30 de junio de 2014, tasa de incidencia (TI) de 20,44/100.000 habitantes: 27 casos en la temporada 1 (TI: 4,70), 173 en la temporada 2 (TI:30,12), 206 en la 3 (TI: 35,95), 91 en la 4 (TI: 15,99) y 87 en la 5 (TI: 15,34).

La temporada epidemiológica con menor número de casos fue la primera (27 casos), se detectó un gran aumento en la temporada 2 (173), alcanzándose el máximo en la temporada 3 (206) y descendiendo en las temporadas 4 (91) y 5 (87). Esta tendencia se mantiene considerando tanto el total de los casos como las formas viscerales y cutáneas de forma desagregada. Analizando los casos en edad pediátrica y los casos en población subsahariana, como subgrupos de especial interés, se encuentra una evolución similar.

Se observa un cambio significativo en la distribución de las formas de presentación de la enfermedad, con una disminución del porcentaje de leishmaniasis cutánea a lo largo de la evolución del brote, pasando del 65 y 68% en las temporadas 2 y 3, a 57 y 51% en las temporadas 4 y 5.

En cuanto a la evolución de las formas viscerales (tabla 1), se aprecia una mayor proporción de casos en hombres, que se mantiene sin diferencias significativas en todas las temporadas. La distribución de los casos por grupos de edad también se mantiene relativamente constante, con una edad media de 39,1 años, que alcanza el máximo en la temporada 4 (44,5 años), que es la que tiene una mayor proporción de casos mayores de 60 años, y el mínimo en la temporada 5 (34,9 años), en la que se incrementa la proporción de casos en edad pediátrica, especialmente en los menores de 2 años. Se observa una

Tabla 1
EVOLUCIÓN DE LOS CASOS VISCERALES POR TEMPORADA EPIDEMIOLÓGICA.
BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID,
JULIO 2009 - JUNIO 2014

	TEMPORADA 1		TEMPORADA 2		TEMPORADA 3		TEMPORADA 4		TEMPORADA 5		TOTAL		p
	Julio 2009 a Junio 2010		Julio 2010 a Junio 2011		Julio 2011 a Junio 2012		Julio 2012 a Junio 2013		Julio 2013 a Junio 2014		N	%	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%			
CASOS	15	6,8	60	27,0	65	29,3	39	17,6	43	19,4	222	100,0	
TASAS (por 100.000 habitantes)	2,61		10,45		11,34		6,85		7,58		7,77		
Sexo													
Hombre	14	93,3	43	71,7	43	66,2	29	74,4	27	62,8	156	70,3	0,209
Mujer	1	6,7	17	28,3	22	33,8	10	25,6	16	37,2	66	29,7	
Edad													
Media	38,0		38,2		39,8		44,5		34,9		39,1		0,507
< 2	1	6,7	9	15,0	8	12,3	1	2,6	10	23,3	29	13,1	0,535
2 a 14	1	6,7	6	10,0	4	6,2	4	10,3	3	7,0	18	8,1	
15 a 29	2	13,3	5	8,3	7	10,8	6	15,4	4	9,3	24	10,8	
30 a 39	3	20,0	13	21,7	9	13,8	2	5,1	5	11,6	32	14,4	
40 a 49	4	26,7	4	6,7	13	20,0	7	17,9	8	18,6	36	16,2	
50 a 59	3	20,0	8	13,3	11	16,9	6	15,4	4	9,3	32	14,4	
60 a 69	1	6,7	8	13,3	7	10,8	9	23,1	5	11,6	30	13,5	
70 y más	0	0,0	7	11,7	6	9,2	4	10,3	4	9,3	21	9,5	
País													
España	9	60,0	40	66,7	42	64,6	24	61,5	25	58,1	140	63,1	0,976
África subsah.	4	26,7	16	26,7	18	27,7	10	25,6	13	30,2	61	27,5	
Otros	2	13,3	4	6,7	5	7,7	5	12,8	5	11,6	21	9,5	
Municipio													
Fuenlabrada	12	80,0	40	66,7	47	72,3	26	66,7	29	67,4	154	69,4	0,734
Leganés	2	13,3	12	20,0	11	16,9	8	20,5	5	11,6	38	17,1	
Getafe	1	6,7	8	13,3	5	7,7	5	12,8	7	16,3	26	11,7	
Humanes de Madrid	0	0,0	0	0,0	2	3,1	0	0,0	2	4,7	4	1,8	
Fact. riesgo intr.													
Sí	6	40,0	15	25,0	25	38,5	12	30,8	9	20,9	67	30,2	0,256
No	9	60,0	45	75,0	40	61,5	27	69,2	34	79,1	155	69,8	
Perros													
Sí	6	40,0	31	51,7	12	18,5	11	28,2	12	27,9	72	32,4	0,002
No	9	60,0	29	48,3	53	81,5	28	71,8	31	72,1	150	67,6	
Perros enfermos													
Sí	1	6,7	4	6,7	1	1,5	2	5,1	1	2,3	9	4,1	0,588
No	14	93,3	56	93,3	64	98,5	37	94,9	42	97,7	213	95,9	
Mosquitos													
Sí	2	13,3	11	18,3	14	21,5	13	33,3	8	18,6	48	21,6	0,357
No	13	86,7	49	81,7	51	78,5	26	66,7	35	81,4	174	78,4	
Ganado													
Sí	2	13,3	2	3,3	1	1,5	1	2,6	0	0,0	6	2,7	0,089
No	13	86,7	58	96,7	64	98,5	38	97,4	43	100,0	216	97,3	
Escombreras													
Sí	1	6,7	1	1,7	4	6,2	4	10,3	3	7,0	13	5,9	0,492
No	14	93,3	59	98,3	61	93,8	35	89,7	40	93,0	209	94,1	
Demora (media en días)	318,6		76,0		56,1		82,4		49,5		82,5		0,000

disminución significativa de la demora en la notificación de los casos a lo largo de las diferentes temporadas epidemiológicas, con una demora media de 82,5 días y un rango de 318,6 días en la primera temporada y de 49,5 días en la última temporada.

En la evolución de los casos cutáneos (tabla 2), exceptuando la primera temporada en la que el 75% de los casos eran mujeres, se observa una mayor proporción de casos en hombres (55,9% versus 44,2%) con diferencias significativas a lo largo del tiempo, siendo la temporada 4 la que presenta una mayor diferencia en la distribución por sexo (69,2% versus 30,8%). La distribución por edad se mantiene relativamente constante en las diferentes temporadas. La demora media en la notificación de los casos es de 206,4 días, con diferencias significativas entre temporadas, alcanzando un máximo de 381,3 días en la temporada 1 y un mínimo de 152,4 días en la temporada 5.

Tanto en el análisis global de los casos como en el análisis por forma de presentación de la enfermedad, no se aprecian diferencias significativas con la evolución del brote según el país de origen, el municipio de residencia y los factores de riesgo intrínseco.

La evolución de los factores de riesgo ambientales clásicos muestra una disminución significativa en la presencia en el entorno de los casos de perros, perros enfermos y explotaciones ganaderas, que se mantiene en el análisis según forma de presentación.

El análisis de los casos pediátricos se realiza de forma desagregada según la forma de presentación de la enfermedad (tabla 3). En los casos viscerales la tendencia es similar a la global en las temporadas 1 a 4, pero en la última temporada se aprecia un importante aumento en el número de casos, que se elevan a 13, una cifra de magnitud cercana a las de las temporadas 2 y 3 (15 y 12 casos respectivamente), debida principalmente al aumento de casos en los menores de 2 años (10 casos sin factores de riesgo intrínseco, 4 de ellos de origen subsahariano). La distribución por sexo no cambia significativamente a lo largo de la evolución del brote, si bien en las dos últimas temporadas el porcentaje de mujeres es mayor que el de hombres. El porcentaje de casos de origen subsahariano es mayor en las temporadas 4 y 5 que en las anteriores, pero sin diferencias significativas. La demora en la notificación de los casos es muy baja, exceptuando la temporada 1 en la que la demora fue muy elevada, en el resto de temporadas se ha mantenido en un rango de 22,8 a 32,3 días. En los casos pediátricos de leishmaniasis cutánea se observa una tendencia similar a la general del brote. La distribución por sexo se mantiene estable a lo largo del brote, sin observarse el predominio masculino habitual. Se han encontrado diferencias significativas en la edad de los casos, siendo menor en las temporadas 3 y 4, debido a la mayor proporción de menores de 5 años. Se ha hallado una disminución no significativa de la demora a lo largo de la

evolución del brote, con una media de 249,1 días y un rango de 491,5 a 184,3 días.

En la población de origen subsahariano (tabla 4) el número de casos viscerales alcanzó el máximo en la temporada 3 (18 casos) y disminuyó en las siguientes, aunque de forma menos marcada que la tendencia general del brote, con 10 casos en la temporada 4 y 13 casos en la temporada 5. No se encuentran diferencias significativas en la distribución por sexo a lo largo del tiempo, si bien en la temporada 3 se invirtió el patrón de presentación, con más casos en mujeres, y en las temporadas 4 y 5 la proporción de hombres fue mayor que la proporción global del brote. No se han encontrado diferencias significativas en la edad, aunque la edad media ha sido menor en la última temporada a expensas de una mayor proporción de casos en edad pediátrica. Se han encontrado diferencias significativas en la presencia de factores de riesgo intrínsecos, en las temporadas 1, 2 y 5 no había ningún caso con factores asociados, mientras que en la temporada 3 la mitad de los casos presentaba al menos un factor de riesgo. Se ha observado una disminución no significativa de la demora en la notificación de los casos a lo largo del tiempo, pasando de 89,5 casos en la temporada 1 a 29,5 en la temporada 5. En la población subsahariana se han notificado 6 casos de leishmaniasis cutánea a lo largo del brote, número tan bajo que no permite sacar conclusiones sobre su evolución temporal.

En cuanto a la distribución de los casos según el municipio de residencia, el que presenta mayor proporción de casos es Fuenlabrada (80,5%), seguido de Leganés (10,6%), Getafe (7,5%) y Humanes de Madrid (1,4%). Este patrón espacial se ha mantenido constante a lo largo de la evolución del brote, en las formas viscerales se ha observado una mayor proporción de casos en Leganés (17,1%) en comparación con la distribución global de los casos, mientras que en las formas cutáneas predomina Fuenlabrada con mayor proporción de casos (87,3%). Los casos de edad pediátrica presentan un patrón de distribución espacial según forma de presentación similar al total de los casos. Los casos viscerales en población de origen subsahariano se concentran en Fuenlabrada (85%) y los casos cutáneos en esta población se han localizado únicamente en Fuenlabrada.

En cuanto a la distribución espacial de los casos dentro de cada municipio (figura 1), en Fuenlabrada se observa una polarización de los casos en la zona norte, especialmente marcada en las temporadas 2 y 3, con una progresiva extensión hacia el interior por la zona este y una acumulación consolidada en el interior occidental del casco urbano; en la temporada 4 se ve una distribución algo más homogénea y con una cierta tendencia lineal de penetración norte-sur hacia el centro urbano, aproximada al trazado del tren de cercanías. En los municipios de Leganés y Getafe, con menor número de casos, las zonas con

Tabla 2
EVOLUCIÓN DE LOS CASOS CUTÁNEOS POR TEMPORADA EPIDEMIOLÓGICA.
BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID,
JULIO 2009 - JUNIO 2014

	TEMPORADA 1		TEMPORADA 2		TEMPORADA 3		TEMPORADA 4		TEMPORADA 5		TOTAL		p
	Julio 2009 a Junio 2010		Julio 2010 a Junio 2011		Julio 2011 a Junio 2012		Julio 2012 a Junio 2013		Julio 2013 a Junio 2014		N	%	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%			
TOTAL	12	13,3	113	31,2	141	39,0	52	14,4	44	12,2	362	100,0	
TASAS (por 100.000 habitantes)	2,09		19,68		24,61		9,13		7,76		12,67		
Sexo													
Hombre	3	25,0	60	53,1	78	55,3	36	69,2	25	56,8	202	55,8	0,067
Mujer	9	75,0	53	46,9	63	44,7	16	30,8	19	43,2	160	44,2	
Edad													
Media	47,9		44,8		46,4		42,2		46,6		45,3		0,687
< 2	0	0,0	0	0,0	5	3,5	0	0,0	0	0,0	5	1,4	0,300
2 a 14	2	16,7	14	12,4	11	7,8	8	15,4	4	9,1	39	10,8	
15 a 29	0	0,0	10	8,8	6	4,3	6	11,5	2	4,5	24	6,6	
30 a 39	0	0,0	13	11,5	19	13,5	9	17,3	6	13,6	47	13,0	
40 a 49	1	8,3	20	17,7	22	15,6	5	9,6	11	25,0	59	16,3	
50 a 59	7	58,3	33	29,2	42	29,8	13	25,0	12	27,3	107	29,6	
60 a 69	2	16,7	15	13,3	28	19,9	6	11,5	5	11,4	56	15,5	
70 y más	0	0,0	8	7,1	8	5,7	5	9,6	4	9,1	25	6,9	
País													
España	11	91,7	100	88,5	126	89,4	47	90,4	37	84,1	321	88,7	0,863
África subsah.	0	0,0	3	2,7	2	1,4	1	1,9	0	0,0	6	1,7	
Otros	1	8,3	10	8,8	13	9,2	4	7,7	7	15,9	35	9,7	
Municipio													
Fuenlabrada	11	91,7	101	89,4	123	87,2	40	76,9	41	93,2	316	87,3	0,196
Leganés	0	0,0	7	6,2	10	7,1	6	11,5	1	2,3	24	6,6	
Getafe	1	8,3	2	1,8	7	5,0	6	11,5	2	4,5	18	5,0	
Humanes de Madrid	0	0,0	3	2,7	1	0,7	0	0,0	0	0,0	4	1,1	
Fact. riesgo intr.													
Sí	0	0,0	8	7,1	8	5,7	8	15,4	3	6,8	27	7,5	0,171
No	12	100,0	105	92,9	133	94,3	44	84,6	41	93,2	335	92,5	
Perros													
Sí	4	33,3	36	31,9	21	14,9	7	13,5	9	20,5	77	21,3	0,007
No	8	66,7	77	68,1	120	85,1	45	86,5	35	79,5	285	78,7	
Perros enfermos													
Sí	1	8,3	8	7,1	1	0,7	0	0,0	0	0,0	10	2,8	0,007
No	11	91,7	105	92,9	140	99,3	52	100,0	44	100,0	352	97,2	
Mosquitos													
Sí	4	33,3	26	23,0	31	22,0	14	26,9	5	11,4	80	22,1	0,333
No	8	66,7	87	77,0	110	78,0	38	73,1	39	88,6	282	77,9	
Ganado													
Sí	2	16,7	4	3,5	3	2,1	1	1,9	0	0,0	10	2,8	0,033
No	10	83,3	109	96,5	138	97,9	51	98,1	44	100,0	352	97,2	
Escombreras													
Sí	0	0,0	5	4,4	6	4,3	6	11,5	2	4,5	19	5,2	0,260
No	12	100,0	108	95,6	135	95,7	46	88,5	42	95,5	343	94,8	
Demora (media en días)	381,3		224,5		193,2		208,2		152,4		206,4		0,000

Tabla 3
EVOLUCIÓN DE LOS CASOS EN EDAD PEDIÁTRICA POR TEMPORADA EPIDEMIOLÓGICA.
BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID,
JULIO 2009 - JUNIO 2014

	TEMPORADA 1		TEMPORADA 2		TEMPORADA 3		TEMPORADA 4		TEMPORADA 5		TOTAL		p
	Julio 2009 a Junio 2010		Julio 2010 a Junio 2011		Julio 2011 a Junio 2012		Julio 2012 a Junio 2013		Julio 2013 a Junio 2014		N	%	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%			
LEISHMANIASIS VISCERAL	2	4,3	15	31,9	12	25,5	5	10,6	13	27,7	47	100,0	
Sexo													
Hombre	1	50,0	9	60,0	6	50,0	2	40,0	6	46,2	24	51,1	0,931
Mujer	1	50,0	6	40,0	6	50,0	3	60,0	7	53,8	23	48,9	
Edad													
Media	6,5		2,6		1,9		2,6		2,1		2,5		0,568
< 2	1	50,0	9	60,0	8	66,7	1	20,0	10	76,9	29	61,7	0,209
2 a 4	0	0,0	3	20,0	2	16,7	3	60,0	1	7,7	9	19,1	
5 a 9	0	0,0	2	13,3	2	16,7	1	20,0	1	7,7	6	12,8	
10 a 14	1	50,0	1	6,7	0	0,0	0	0,0	1	7,7	3	6,4	
País													
España	1	50,0	10	66,7	6	50,0	2	40,0	5	38,5	24	51,1	0,546
África subsah.	0	0,0	5	33,3	4	33,3	2	40,0	6	46,2	17	36,2	
Otros	1	50,0	0	0,0	2	16,7	1	20,0	2	15,4	6	12,8	
Municipio													
Fuenlabrada	1	50,0	11	73,3	7	58,3	3	60,0	9	69,2	31	66,0	0,639
Leganés	1	50,0	3	20,0	5	41,7	2	40,0	1	7,7	12	25,5	
Getafe	0	0,0	1	6,7	0	0,0	0	0,0	2	15,4	3	6,4	
Humanes de Madrid	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	7,7	1	2,1	
Fact. riesgo intr.													
Sí	0	0,0	0	0,0	1	8,3	1	20,0	0	0,0	2	4,3	0,301
No	2	100,0	15	100,0	11	91,7	4	80,0	13	100,0	45	95,7	
Demora (media en días)	546,5		32,3		24,5		22,8		25,4		49,3		0,000
LEISHMANIASIS CUTÁNEA	2	4,5	14	31,8	16	36,4	8	18,2	4	9,1	44	100,0	
Sexo													
Hombre	0	0,0	7	50,0	11	68,8	4	50,0	2	50,0	24	54,5	0,417
Mujer	2	100,0	7	50,0	5	31,3	4	50,0	2	50,0	20	45,5	
Edad													
Media	11,5		7,5		4,6		4,5		8,5		6,2		0,041
< 2	0	0,0	0	0,0	5	31,3	0	0,0	0	0,0	5	11,4	0,088
2 a 4	0	0,0	4	28,6	5	31,3	5	62,5	1	25,0	15	34,1	
5 a 9	0	0,0	5	35,7	3	18,8	2	25,0	2	50,0	12	27,3	
10 a 14	2	100,0	5	35,7	3	18,8	1	12,5	1	25,0	12	27,3	
País													
España	1	50,0	11	78,6	9	56,3	6	75,0	4	100,0	31	70,5	0,600
África subsah.	0	0,0	0	0,0	1	6,3	1	12,5	0	0,0	2	4,5	
Otros	1	50,0	3	21,4	6	37,5	1	12,5	0	0,0	11	25,0	
Municipio													
Fuenlabrada	2	100,0	9	64,3	14	87,5	6	75,0	3	75,0	34	77,3	0,555
Leganés	0	0,0	3	21,4	2	12,5	0	0,0	0	0,0	5	11,4	
Getafe	0	0,0	1	7,1	0	0,0	2	25,0	1	25,0	4	9,1	
Humanes de Madrid	0	0,0	1	7,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,3	
Fact. riesgo intr.													
Sí	0	0,0	0	0,0	1	6,3	0	0,0	0	0,0	1	2,3	0,774
No	2	100,0	14	100,0	15	93,7	8	100,0	4	100,0	43	97,7	
Demora (media en días)	491,5		258,2		212,2		279,0		184,3		249,1		0,323

Tabla 4

EVOLUCIÓN DE LOS CASOS EN PERSONAS DE ORIGEN SUBSAHARIANO POR TEMPORADA EPIDEMIOLÓGICA.
BROTE COMUNITARIO DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID,
JULIO 2009 - JUNIO 2014

	TEMPORADA 1		TEMPORADA 2		TEMPORADA 3		TEMPORADA 4		TEMPORADA 5		TOTAL		p
	Julio 2009 a Junio 2010		Julio 2010 a Junio 2011		Julio 2011 a Junio 2012		Julio 2012 a Junio 2013		Julio 2013 a Junio 2014		N	%	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%			
LEISHMANIASIS VISCERAL	4	6,6	16	26,2	18	29,5	10	16,4	13	21,3	61	100,0	
Sexo													
Hombre	4	100,0	10	62,5	8	44,4	8	80,0	10	76,9	40	65,6	0,687
Mujer	0	0,0	6	37,5	10	55,6	2	20,0	3	23,1	21	34,4	
Edad													
Media	33,0		24,1		30,8		29,2		19,8		26,6		0,431
< 2	0	0,0	2	12,5	0	0,0	0	0,0	3	23,1	5	8,2	0,932
2 a 14	0	0,0	3	18,8	4	22,2	2	20,0	3	23,1	12	19,7	
15 a 29	1	25,0	3	18,8	4	22,2	3	30,0	2	15,4	13	21,3	
30 a 39	2	50,0	5	31,3	5	27,8	2	20,0	4	30,8	18	29,5	
40 a 49	1	25,0	1	6,3	2	11,1	2	20,0	1	7,7	7	11,5	
50 a 59	0	0,0	2	12,5	1	5,6	1	10,0	0	0,0	4	6,6	
60 a 69	0	0,0	0	0,0	1	5,6	0	0,0	0	0,0	1	1,6	
70 y más	0	0,0	0	0,0	1	5,6	0	0,0	0	0,0	1	1,6	
Municipio													
Fuenlabrada	4	100,0	12	75,0	16	88,9	8	80,0	12	92,3	52	85,2	0,802
Leganés	0	0,0	3	18,8	1	5,6	2	20,0	1	7,7	7	11,5	
Getafe	0	0,0	1	6,3	1	5,6	0	0,0	0	0,0	2	3,3	
Humanes de Madrid	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Fact. riesgo intr.													
Sí	0	0,0	0	0,0	9	50,0	2	20,0	0	0,0	11	18,0	0,001
No	4	100,0	16	100,0	9	50,0	8	80,0	13	100,0	50	82,0	
Demora (media en días)	89,5		48,3		43,4		41,0		29,5		44,3		0,277
LEISHMANIASIS CUTÁNEA	0	0,0	3	50,0	2	33,3	1	16,7	0	0,0	6	100,0	
Sexo													
Hombre	0	0,0	2	66,7	1	50,0	1	100,0	0	0,0	4	66,7	0,117
Mujer	0	0,0	1	33,3	1	50,0	0	0,0	0	0,0	2	33,3	
Edad													
Media	--		25,7		16,5		7,0		--		19,5		0,539
< 2	0	0,0	0	0,0	1	50,0	0	0,0	0	0,0	1	16,7	0,062
2 a 14	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1	16,7	
15 a 29	0	0,0	3	100,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	50,0	
30 a 39	0	0,0	0	0,0	1	50,0	0	0,0	0	0,0	1	16,7	
40 a 49	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
50 a 59	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
60 a 69	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
70 y más	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Municipio													
Fuenlabrada	0	0,0	3	100,0	2	100,0	1	100,0	0	0,0	6	100,0	--
Leganés	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Getafe	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Humanes de Madrid	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Fact. riesgo intr.													
Sí	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	--
No	0	0,0	3	100,0	2	100,0	1	100,0	0	0,0	6	100,0	
Demora (media en días)	--		205,0		239,0		416,0		--		251,5		0,232

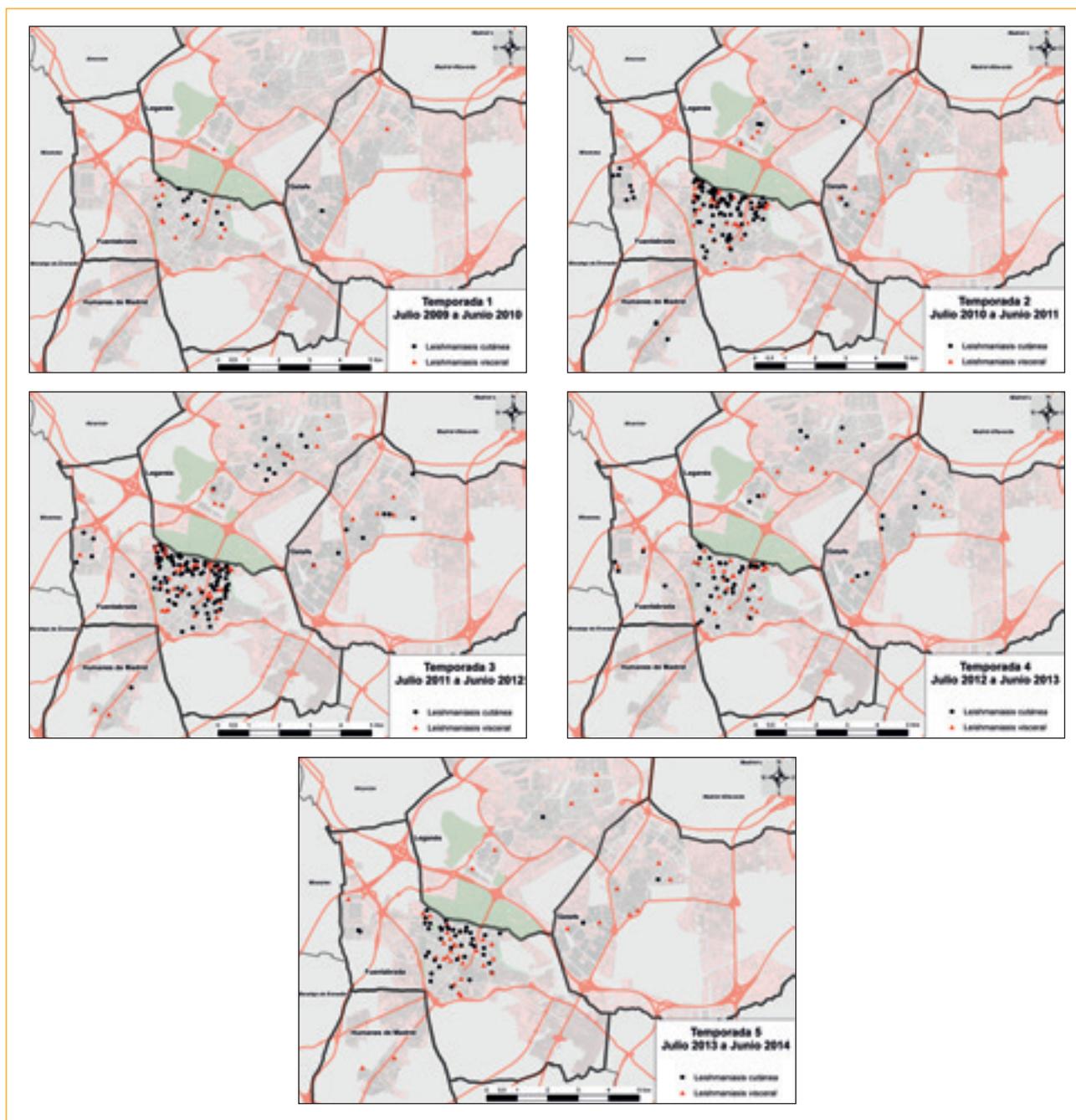


Figura 1. Distribución de los casos de leishmaniasis en el territorio epidémico, por temporada epidemiológica. Brote epidémico de la zona suroeste de la Comunidad de Madrid, Julio 2009-Junio 2014.

mayor proporción de casos son las situadas al sur, próximas al límite septentrional del casco urbano de Fuenlabrada.

Discusión y conclusiones

La tendencia global en el número de casos del brote muestra que el acmé se produjo en la temporada 3 con 206 casos, disminuyendo a 91 y 87 casos en las temporadas 4 y 5. Las intervenciones ambientales realizadas para el control del brote comenzaron en 2011 y se intensificaron a partir de 2012, especialmente de mayo a octubre, coincidiendo con los meses

de actividad del flebotomo, y parecen haber influido en la evolución del brote, ya que el descenso en el número de casos empieza a verse a partir de la cuarta temporada epidemiológica (a partir de julio de 2012).

A lo largo del tiempo se ha mantenido una mayor proporción de formas cutáneas con respecto a las viscerales. Los casos de leishmaniasis esporádicos notificados habitualmente son, en su mayoría, formas viscerales de la enfermedad, mientras que en la zona del brote hay mayor proporción de casos cutáneos, probablemente debido a que los facultativos de la zona han desarrollado una mayor capacidad de sospecha diagnóstica de leishmaniasis cutánea,

especialmente marcada en Fuenlabrada, donde se ha detectado el mayor número de casos.

La demora en la notificación agrupa la demora del paciente en demandar asistencia sanitaria desde que aparecen los síntomas, la demora del diagnóstico y la demora en la notificación. La investigación del brote y la difusión de la información han ido mejorando a lo largo del tiempo, contribuyendo a una mayor información y sensibilización de los profesionales sanitarios y de la población general, aspectos que pueden tener una repercusión directa en los tres factores de la demora favoreciendo su disminución a lo largo del tiempo. La demora ha sido mayor en las formas cutáneas que en las viscerales de forma sostenida a lo largo de la evolución del brote. Esta diferencia es aún más llamativa en los casos en edad pediátrica y en los casos de origen subsahariano, en los que la diferencia en la demora según la forma de presentación de la enfermedad es aún mayor y se mantiene a lo largo de la evolución del brote.

Fuenlabrada ha sido el municipio más afectado en todas las temporadas, con un foco de mayor intensidad concentrado en la zona norte en las pri-

meras temporadas, que se ha desplazado hacia el interior en las temporadas 4 y 5.

La evolución de la magnitud del brote puede explicarse, al menos en parte, por las intervenciones ambientales realizadas, ya que la importante disminución de casos a partir de la cuarta temporada epidemiológica coincide con la intensificación de dichas intervenciones. Las actuaciones sobre el reservorio se centraron inicialmente en el perro como reservorio clásico de esta enfermedad en nuestro entorno, pero la demostración de la participación de los lepidóidos como nuevo reservorio implicado en este brote supuso la reorientación de las intervenciones hacia el control de estos animales. En el análisis comparativo de los casos según temporada epidemiológica, se ha encontrado una disminución del porcentaje de formas cutáneas, una reducción del porcentaje de algunos de los factores de riesgo ambiental estudiado y un descenso de la demora entre el inicio de síntomas y la notificación, aunque no se han encontrado cambios significativos en las características propias de los casos que contribuyan a explicar la evolución del brote.

BIBLIOGRAFÍA

- Heymann, David L. –ed. El control de las enfermedades transmisibles. 19ª ed. Washington, D. C.: OPS, 2011. (Publicación Científica y Técnica N.º. 635).
- Dujardin JC, Campino L, Canavate C, Dedet JP, Gradoni L, Soteriadou K, et al. Spread of vector-borne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe. *Emerg Infect Dis* (2008) 14(7):1013–810.3201/eid1407.071589
- Abubakar A, Ruiz-Postigo JA, Pita J, Lado M, Ben-Ismael R, et al. (2014) Visceral Leishmaniasis Outbreak in South Sudan 2009–2012: Epidemiological Assessment and Impact of a Multisectoral Response. *PLoS Negl Trop Dis* 8(3): e2720. doi:10.1371/journal.pntd.0002720
- Muniaraj M. The lost hope of elimination of Kala-azar (visceral leishmaniasis) by 2010 and cyclic occurrence of its outbreak in India, blame falls on vector control practices or co-infection with human immunodeficiency virus or therapeutic modalities?. *Trop Parasitol* 2014;4:10-19
- Werneck GL, Rodrigues L, Santos MV, Araújo IB, Moura LS, Lima SS, Gomes RB, Maguire JH, Costa CH. The burden of *Leishmania chagasi* infection during an urban outbreak of visceral leishmaniasis in Brazil. *Acta Trop*. 2002 Jul;83(1):13-8.
- Varani S, Cagarelli R, Melchionda F, Attard L, Salvadori C, Finarelli AC, Gentilomi GA, Tiganì R, Rangoni R, Todeschini R, Scalone A, Di Muccio T, Gramiccia M, Gradoni L, Viale P, Landini MP. Ongoing outbreak of visceral leishmaniasis in Bologna Province, Italy, November 2012 to May 2013. *Euro Surveill*. 2013;18(29):pii=20530. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20530>
- Suarez B, Isidoro B, Santos S, Sierra MJ, Molina R, Astray J, et al. Situación epidemiológica y de los factores de riesgo de transmisión de *Leishmania Infantum* en España. *Rev Esp Salud Pública*. 2012; 86(6):555-564.
- Morbilidad por enfermedades de declaración Obligatoria. Comunidad de Madrid. Año 2012. Boletín epidemiológico de la Comunidad de Madrid. 2013;19(11). Disponible en: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-Disposition&blobheadervalue1=filename%3DNoviembre2011.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1310910631705&ssbinary=true>
- Arce A, Estirado A, Ordobás M, Sevilla S, García N, Moratilla L, de la Fuente S, Martínez AM, Pérez AM, Aránguez E, Iriso A, Sevillano O, Bernal J, Vilas F. Reemergence of leishmaniasis in Spain: community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill*. 2013;18(30):pii=20546. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20546>
- Aránguez Ruiz E, Arce Arnáez A, Moratilla Monzo L, Estirado Gómez A, Iriso Calle A, De la Fuente Ureña S, Soto Zabalgoageazcoa MJ, Fuster Lorán F, Ordobás Gavín M, Martínez Serrano AM, Vilas Herranz F. Análisis espacial de un brote de leishmaniasis en el sur del área metropolitana de la Comunidad de Madrid. 2009-2013. *Rev salud ambient*. 2014;14(1):39-53.
- Manual de Notificación Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria. Documentos Técnicos de Salud Pública n.º 69. Instituto de Salud Pública. Consejería de Sanidad y Consumo. Comunidad de Madrid. 2006. Disponible en: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application/pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1202740885300&ssbinary=true>

LEISHMANIASIS VISCERAL EN EL MUNICIPIO DE FUENLABRADA

Juan Victor San Martín¹, José M. Ruiz¹, Laura Molina², Luis Horrillo¹, Belén Matía¹, Alicia Castro¹, Elena Madroñal¹, Jesús García-Martínez², Ana Barrios¹, Noemí Cabello¹, Isabel G. Arata², Juan Hinojosa¹, Eduardo Canalejo¹, Jerónimo Jaquetti² y Alfredo Bermejo³

¹ Servicio de Medicina Interna. Área de Infecciosas. ² Servicio de Análisis Clínicos. Área de Microbiología.

³ Servicio de Análisis Clínicos. Área de Hematología. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Resumen

Desde la declaración del brote de leishmaniasis en Junio de 2009 hasta el 31 de Mayo de 2014 hemos atendido en el hospital de Fuenlabrada 107 pacientes mayores de 14 años con leishmaniasis visceral (LV). El 69% fueron varones y la edad media fue de 45,8 (SD 15,6, rango 15-95).

La leishmaniasis ganglionar la presentaron 22 pacientes (21%), una forma atípica de leishmaniasis caracterizada por adenopatías aisladas sin síntomas sistémicos. Los pacientes con esta forma de presentación fueron todos inmunocompetentes y sólo el 18% nacidos fuera de España. El diagnóstico se realizó por Punción Aspiración con Aguja Fina (PAAF) de las adenopatías. El tratamiento se realizó con anfotericina B liposomal, aunque en un caso las adenopatías se resolvieron sin tratamiento.

La forma clásica se presentó en 85 pacientes (79%) tuvieron una forma clásica de presentación, mayoritariamente con fiebre, síntomas constitucionales (astenia, anorexia, pérdida de peso) y esplenomegalia. El 65% de los pacientes de este grupo eran inmunocompetentes, y hasta el 46% fueron nacidos fuera de España. Ambos porcentajes fueron estadísticamente diferentes comparados con la forma ganglionar ($p < 0,001$ y $0,015$ respectivamente). El diagnóstico se basó en una estrategia combinada de serología rápida, visualización del aspirado de médula ósea y detección de DNA de *Leishmania* por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). El

tratamiento se realizó con anfotericina B liposomal. Sólo un paciente no respondió al tratamiento inicial, aunque sí al retratamiento, y hubo 9 recaídas en el seguimiento posterior (12% de fracasos de tratamiento).

Introducción

Las formas de presentación clínica de la leishmaniasis causada por *L. infantum* más frecuentes son las leishmaniasis cutánea (LC) y la leishmaniasis visceral (LV). Se han referido casos aislados de leishmaniasis mucosa asociada a pacientes inmunodeprimidos, producida por la presencia de *Leishmania* en la mucosa respiratoria o digestiva¹. Otras formas de presentación de la leishmaniasis, como la forma post-kala azar, no se han descrito asociadas a *L. infantum*.

El período de incubación desde la inoculación del parásito por el flebotomo hasta el inicio de los síntomas de la LV es variable. Aunque en la mayoría de los casos la sintomatología clínica aparece entre dos a seis meses, se han descrito casos desde una semana hasta varios años después de la inoculación. La forma de presentación clínica habitual es un cuadro de fiebre intermitente con pérdida de peso y esplenomegalia². La presencia de adenopatías no es frecuente en la LV, salvo en la región de Sudán (*L. donovani*), donde siempre se asocia a fiebre y síntomas sistémicos³. Por el contrario, la presencia de adenopatías locales es frecuente en la LC producida

por otras especies de *Leishmania*, como *L. major* o *L. braziliensis*, cercanas a la lesión cutánea ⁴.

La inmunidad del huésped es fundamental para determinar la forma de presentación clínica. Así, los pacientes con depresión de la inmunidad celular tienen más probabilidad de padecer LV, como los pacientes VIH ⁵, los pacientes trasplantados ⁶ o los pacientes con terapias biológicas antiTNF (Anti Tumor Necrosis Factor) ⁷.

El diagnóstico de la LV se basa en la combinación del síndrome clínico típico con la demostración del parásito, de forma directa mediante microscopía óptica, cultivo, detección de DNA por PCR o de forma indirecta mediante serología ². El método serológico de referencia es la inmunofluorescencia indirecta (IFI), aunque al ser una técnica laboriosa y subjetiva se ha extendido el uso de test de ELISA, más sencillo y barato. Por otro lado, se han desarrollado recientemente técnicas cromatográficas basadas en la detección del antígeno rK39 que ofrecen la ventaja de ser rápidas, permitiendo el diagnóstico en unas dos horas.

Respecto al tratamiento de la leishmaniasis, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que se tenga en cuenta la especie de *Leishmania*, la región del mundo y la situación inmunológica del huésped. En nuestro medio, el tratamiento de elección es anfotericina B liposomal variando la dosis en función de la situación inmunológica ². Por otro lado, para definir la curación, la OMS recomienda distinguir entre respuesta al final de tratamiento, definida como resolución de síntomas al terminar el tratamiento y respuesta definitiva a tratamiento, para lo que deben haber pasado 6 meses desde el fin del mismo, ya que éste es el período de mayor riesgo de recidiva.

Resultados

Desde la apertura del Hospital Universitario de Fuenlabrada en 2004 hasta el 31 de Mayo de 2014 hemos atendido 118 casos de LV en pacientes mayores de 14 años, de ellos 107 desde la declaración del brote en Junio de 2009.

Respecto a los casos del brote, el 69% fueron varones y la edad media 45,8 (SD 15,6, rango 15-95). De ellos, 22 pacientes (21%) tuvieron una leishmaniasis ganglionar y 85 pacientes (79%) tuvieron una forma clásica de presentación con fiebre, síndrome constitucional (astenia, anorexia, pérdida de peso) y/o esplenomegalia.

La leishmaniasis ganglionar es una forma poco frecuente de presentación de leishmaniasis producida por *L. infantum* ⁸. Los pacientes con esta forma de presentación fueron todos inmunocompetentes y sólo el 18% nacidos fuera de España. Todos los pacientes presentaron adenopatías no dolorosas sin síntomas sistémicos, de una media de 2 meses de duración. Sólo una paciente (5%) tenía esplenomegalia.

El diagnóstico se realizó por PAAF de las adenopatías, que demostró presencia de leishmanias. La serología no fue útil para el diagnóstico de esta entidad, ya que el 50% de los pacientes tuvieron serología negativa, tanto en rk39 como en IFI.

Los pacientes con leishmaniasis ganglionar se trataron con anfotericina B liposomal. Una paciente no recibió tratamiento, ya que se comprobó la resolución espontánea de las adenopatías al cabo de varios meses del diagnóstico inicial. Respecto a los 21 pacientes tratados, todos menos uno presentaron respuesta a final de tratamiento. La paciente "no curada" presentó nuevas adenopatías donde se documentó *Leishmania*. Ésta era la única paciente de la serie que presentaba esplenomegalia, y respondió bien a un segundo ciclo de anfotericina B liposomal. En el momento de cerrar el estudio (31 de Mayo de 2014) hay 4 pacientes que han terminado el tratamiento sin que hayan transcurrido seis meses desde el final del mismo. En el resto de pacientes tratados (17) se consideró respuesta definitiva a tratamiento (curación basada en parámetros clínicos) en todos los casos (100%), incluyendo el caso que se retrató.

Respecto a los 85 pacientes que se presentaron con leishmaniasis visceral "clásica" (fiebre, pérdida de peso, esplenomegalia), el 65% de los pacientes de este grupo eran inmunocompetentes (vs 100% de leishmaniasis ganglionar, $p < 0,001$); y hasta el 46% fueron nacidos fuera de España (vs 18% de leishmaniasis ganglionar, $p = 0,015$). Entre las causas de inmunosupresión destacan el uso de inmunosupresores (esteroides, metotrexato, antiTNF) en el 17% y la infección VIH en el 11%.

De forma global, el 94% de los pacientes presentó fiebre y el 39% refería pérdida de peso. El 36% tenía esplenomegalia palpable, pero en el 95% se demostró esplenomegalia radiológica. El 89% tuvo anemia (hemoglobina menor de 12 g/dl), el 89% leucopenia (menos de 4000 leucocitos por mm^3) y el 95% trombopenia (menos de 150.000 plaquetas por mm^3). Los reactantes de fase estaban aumentados en más del 90% de los casos, en general en rangos elevados: proteína C reactiva mayor de 10 mg/dl en el 54%, velocidad de sedimentación mayor de 70 mm/h en el 54% y ferritina mayor de 1.000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ en el 74% (10 pacientes tuvieron más de 10.000 unidades de ferritina).

Para el diagnóstico de la LV el laboratorio de Microbiología incorporó diferentes técnicas desde que se confirmó la presencia del brote. Nuestro laboratorio no disponía inicialmente de técnicas serológicas para la determinación de leishmania, por lo que para los pacientes diagnosticados en los primeros meses del brote la estrategia diagnóstica se basaba en aspirado de médula ósea (visualización y PCR) y serología IFI, que se realizaba en el servicio de Microbiología del Hospital Severo Ochoa de Leganés. Desde abril de 2010 se realiza en nuestro centro una serología rápida basada en la detección de rk39 y un ELISA.

Respecto a la rentabilidad de las pruebas, la visualización de leishmanias en el aspirado de médula ósea dio positivo en un 43% (33 de 77 casos), el cultivo en el 46% (11 de 23) y la detección de DNA de *Leishmania* por PCR en el 92% (69 de 75 casos). En cuanto a las serologías la rentabilidad de la serología rk39 ha sido del 61% (35 positivos de 57 test), en IFI del 100% (23 de 23) y en ELISA del 95% (57 de 60).

Hay que destacar que otros 7 pacientes ingresados para el estudio de fiebre, y en los que, finalmente, se descartó leishmaniasis activa, tuvieron ELISA positivo, que se interpretó como indicador de exposición previa pero no de enfermedad activa. Esto limita el uso de la serología ELISA para el diagnóstico de enfermedad activa en un entorno de epidemia como el nuestro. Sin embargo, en todos los casos rK39 positivos (100%) se confirmó LV, lo que sugiere que esta prueba es muy específica para enfermedad, además de rápida.

El tratamiento se realizó con anfotericina B liposomal. Sólo un paciente se consideró no curado a final de tratamiento, un paciente que había estado recibiendo esteroides previamente al diagnóstico de LV, y que se curó con el tratamiento de rescate. En el seguimiento posterior hubo 9 pacientes que recayeron, siendo en total 12% de fracasos terapéuticos, que

respondieron a pautas de retratamiento salvo dos pacientes que fallecieron en la recaída y un tercero, con infección VIH, que está en su 5ª recaída.

Conclusiones

1. Se debe incluir la leishmaniasis en el diagnóstico diferencial de las adenopatías aisladas en áreas endémicas de leishmaniasis por *L. infantum*.
2. La forma clásica de presentación clínica es la fiebre, esplenomegalia, pancitopenia y elevación de reactantes de fase, siendo llamativas las altas cifras de ferritina.
3. La combinación de la serología rápida seguida de la detección de DNA de *Leishmania* por PCR en médula ósea para los casos negativos es la estrategia que proponemos para el diagnóstico. Un resultado positivo de serología rápida rK39 fue diagnóstico de LV en todos los casos, mientras que un resultado negativo no descarta LV. Por otro lado un resultado positivo de ELISA no es confirmatorio pero un resultado negativo de ELISA prácticamente descarta leishmaniasis.
4. La anfotericina B liposomal es el tratamiento de elección en nuestro medio.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Jimeno A, Morales E, Peñalver E, Ladrón de Guevara S. Visceral leishmaniasis diagnosed from a colon biopsy. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2012 Jun;30(6):353-4.
- ² World Health Organization. WHO Expert Committee on control of Leishmaniasis (Geneva), Meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010. Geneva: World Health Organization; 2010.
- ³ Zijlstra EE, Ali MS, El-Hassan AM, El-Toum IA, Satti M, Ghalib HW, Sondorp E, Winkler A, 1991. Kala-azar in displaced people from southern Sudan: epidemiological, clinical and therapeutic findings. *Trans. R Soc. Trop. Med. Hyg.* 85: 365-369.
- ⁴ Sousa Ade Q, Parise ME, Pompeu MM, Coehlo Filho JM, Vasconcelos IA, Lima JW, Oliveira EG, Vasconcelos AW, David JR, Maguire JH. Bubonic leishmaniasis: a common manifestation of *Leishmania* (Viannia) braziliensis infection in Ceara, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1995 Oct;53(4):380-5.
- ⁵ Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Canavate C, Dedet J-P, et al. The Relationship between Leishmaniasis and AIDS: the Second 10 Years. *Clin. Microbiol. Rev.* 2008 Apr 1;21(2):334-59.
- ⁶ Spinello Antinori, Antonio Cascio, Carlo Parravicini, Roberto Bianchi, Mario Corbellino. Leishmaniasis among organ transplant recipients. *Lancet Infect. Dis.* 2008; 8: 191-99
- ⁷ P. Zanger, I. Kotter, P. G. Kremsner and S. Gabrysch. Tumor necrosis factor alpha antagonist drugs and leishmaniasis in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18: 670-676
- ⁸ Ignatius R, Loddenkemper C, Woitzik J, Schneider T, Harms G. Localized leishmanial lymphadenopathy: an unusual manifestation of leishmaniasis in a traveler in southern Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011 Aug;11(8):1213-5.

LEISHMANIASIS CUTÁNEA EN EL MUNICIPIO DE FUENLABRADA

Marta Aguado, Alberto Romero-Maté, Laura Nájera¹, Marta Utrera,
Angélica Calderón-Komáromy y Jesús Borbujo

Servicios de Dermatología y ¹Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Fuenlabrada.
Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Resumen

La leishmaniasis, endémica en España, está causada por protozoos del género *Leishmania*. Desde el año 2010, y hasta la actualidad, se ha detectado una epidemia de leishmaniasis cutánea y visceral en Fuenlabrada, Madrid.

El objetivo es describir los casos de leishmaniasis cutánea (LC) diagnosticados durante 17 meses en el Servicio de Dermatología del Hospital de Fuenlabrada.

Estudiamos variables epidemiológicas, clínicas, histológicas, microbiológicas y terapéuticas de cada paciente.

Se recogieron datos de 149 pacientes. Encontramos una incidencia similar en varones y en mujeres, la edad más frecuente fue 46-60 años. El tiempo de evolución presentaba un pico de máxima frecuencia entre los 2 y 6 meses. La forma clínica más habitual fue la de pápulas y placas eritematosas sin costra (52%). En el 57% de los casos las lesiones eran múltiples. La localización más frecuente fue en áreas fotoexpuestas. El estudio histológico mostró en el 67% de los pacientes una dermatitis granulomatosa no necrotizante sin parásitos con tinciones habituales. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *Leishmania* confirmó el diagnóstico en el 98% de los casos. En los demás el estudio histológico de la piel identificó cuerpos de leishmanias. Los antimoniales pentavalentes intralesionales fueron los fármacos más empleados (76%), con resultado satisfactorio.

Presentamos una serie amplia de casos de LC en

el contexto de una epidemia. La forma más habitual fue la aparición de múltiples pápulas y la forma histológica la dermatitis granulomatosa no necrotizante, en la que no se observaron leishmanias. Ambas características no son las habituales en las LC. Por ello la PCR en piel fue la prueba más importante para alcanzar el diagnóstico.

Palabras clave. leishmaniasis cutánea, Fuenlabrada, epidemia.

Introducción

La leishmaniasis es una parasitosis causada por más de 20 especies de protozoos del género *Leishmania*. La transmisión se produce por la picadura de un díptero hematófago hembra del género *Phlebotomus* (Viejo Mundo) y *Lutzomyia* (Nuevo Mundo). El reservorio y fuente de infección suelen ser animales domésticos y salvajes (zoonosis), pero también se describe la transmisión de humano a humano (antropoiónica)¹.

Es una enfermedad endémica en más de 80 países de Latinoamérica, Asia, África y el sur de Europa. En España la mayor parte de los casos, tanto de leishmaniasis cutánea (LC) como visceral (LV), están producidos por *L. infantum* y se distribuyen por la costa mediterránea, Aragón y centro de la Península. Es una Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO)¹.

La presentación clínica típica de la LC aguda en España es conocida como Botón de Oriente. Consiste en una pápula asintomática o discretamente pruri-

ginoso, localizada en áreas expuestas que evoluciona hacia una placa infiltrada o una lesión nodular eritematosa que se ulcera en el centro en la mitad de los casos y se cubre con una costra seropurulenta¹.

Los hallazgos del estudio histológico de la LC dependen del momento evolutivo de la lesión: en fases iniciales se suele observar un infiltrado inflamatorio denso y difuso en la dermis compuesto por linfocitos, células plasmáticas e histiocitos. Estos últimos contienen amastigotes en su interior. Conforme evoluciona la lesión, se forma un infiltrado inflamatorio granulomatoso y se produce una disminución en el número de amastigotes, dificultando su identificación¹.

Durante los años 2010 y 2011 se comenzó a detectar un aumento en el número de casos de LC y LV en la Comunidad de Madrid². La mayoría de éstos pertenecían a los municipios de Leganés y Fuenlabrada². Entre julio de 2009 y diciembre de 2011 el número de casos de LV en Fuenlabrada fue de 67 (tasa de incidencia acumulada anual de 12,05) y de LC de 108 (tasa de incidencia acumulada anual de 19,43) (tabla 1)². La mayoría de ellos vivía o había frecuentado la zona noroeste del centro urbano de Fuenlabrada, limítrofe con el término municipal de Leganés³.

La hipótesis inicial para explicar el aumento de casos de leishmaniasis en estos municipios es la existencia de una o varias zonas de riesgo para picaduras de *Phlebotomus* infectados, sobre todo durante los últimos meses de verano del año 2010, y como consecuencia de ello, se produce una agrupación temporoespacial de personas enfermas³. Los reservorios que se han investigado son perros, gatos, ratas negras, liebres y conejos⁴. Dado que se obtuvo un resultado positivo para la enfermedad en un 7% de los perros investigados, se concluyó que éstos no permitían por sí mismos explicar el incremento de casos en humanos⁵. Por ello, se decidió estudiar otras fuentes de alimentación de los vectores como las liebres, conejos, gatos y ratas⁵. Los resultados obtenidos hasta ahora, indican que un 30% de las liebres estudiadas están parasitadas por

leishmania, quedando por analizar algunas muestras y pendiente de asignación definitiva de subtipo de *Leishmania infantum*⁵.

Presentamos 149 casos de LC diagnosticados en nuestro Servicio de Dermatología del Hospital Universitario de Fuenlabrada (Madrid).

Material y métodos

Se recogieron los casos de LC (con o sin afectación visceral y/o ganglionar) diagnosticados en el Servicio de Dermatología del Hospital Universitario de Fuenlabrada en un periodo de 17 meses (octubre 2010-febrero 2012). La población de referencia fue de 22.500 habitantes aproximadamente, incluyendo a los pacientes de Fuenlabrada, Moraleja de Enmedio y Humanes de Madrid. El diagnóstico se realizó por visualización directa del parásito en biopsia cutánea o PCR de *Leishmania* positiva en muestra de piel en fresco o en parafina.

De cada paciente se recogieron los siguientes parámetros: edad, sexo, lugar de residencia, animales de compañía en domicilio, antecedentes de inmunosupresión, tratamientos previos realizados, tiempo de evolución de las lesiones desde su aparición hasta el momento de la consulta, presentación clínica (morfología de las lesiones, número, localización, tamaño), síntomas asociados, hallazgos en el estudio histológico cutáneo, resultado de la PCR para *Leishmania* realizada sobre muestra de piel, otras pruebas complementarias realizadas (analítica, radiografía de tórax, cultivos microbiológicos, etc.), afectación sistémica (adenopatías, fiebre, sudoración, pérdida de peso, hepato o esplenomegalia, etc.), tratamiento efectuado y respuesta al mismo.

Resultados

De los 149 pacientes estudiados 78 eran varones (52%) y 71 mujeres (48%). La edad de los pacientes oscilaba entre los 6 meses y 81 años, con una media de 49,2. Se encontró un pico de máxima frecuencia

Tabla 1
NOTIFICACIONES DE LEISHMANIASIS EN LOS MUNICIPIOS DE FUENLABRADA, LEGANÉS Y GETAFE
ENTRE JULIO 2009-DICIEMBRE 2011

	LEISHMANIASIS VISCERAL		LEISHMANIASIS CUTÁNEA		TOTAL	
	N	TI	N	TI	N	TI
Fuenlabrada	67	12,05	108	19,43	175	31,48
Leganés	18	3,85	7	1,5	25	5,34
Getafe	8	1,89	1	0,24	9	2,14
TOTAL	93	10,71	116	13,36	209	24,08

Tomado de: Brote comunitario de Leishmaniasis en los municipios de Fuenlabrada, Leganés y Getafe (2009-2011). Área 9. Servicio Madrileño de Salud. Marzo 2012.

N = número de pacientes. TI = tasa de incidencia.

Tabla 2

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON ANTECEDENTES DE INMUNOSUPRESIÓN (SE EXCLUYE DE LA TABLA A LOS PACIENTES QUE SÓLO TENÍAN DM TIPO 2 COMO FACTOR DE POSIBLE INMUNOSUPRESIÓN)

SEXO	EDAD (EN AÑOS)	SITUACIÓN INMUNOSUPRESIÓN
M	75	DM tipo 2, neutropenia idiopática
V	81	DM tipo 2, EPOC, asbestosis, ERC, carcinoma renal, colon y próstata
V	56	ERC grado 3B
V	46	Esplenectomizado
V	6	Déficit de Ig A
M	52	Gammapatía monoclonal, AR en tratamiento con prednisona, metotrexato e hidroxiclороquina
M	62	AR en tratamiento con adalimumab
M	57	AR en tratamiento con metotrexato y prednisona
M	60	Psoriasis en tratamiento con adalimumab y metotrexato
V	31	Psoriasis en tratamiento con metotrexato e infliximab
V	38	Enf. Crohn en tratamiento con mesalazina y prednisona
M	51	VHC
V	47	VHC
V	71	VHC
V	58	VHC
V	52	VHC, cirrosis alcohólica
V	53	VIH C2
V	26	VIH A2

M: mujer, V: varón, DM: diabetes mellitus, EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica, ERC: enfermedad renal crónica, AR: artritis reumatoide, VHC: virus hepatitis C, VIH: virus inmunodeficiencia humana.

(71 casos) en el grupo de 46-60 años. Doce pacientes eran menores de 14 años.

El lugar de residencia habitual de 71 pacientes (48%) se situaba en el norte de Fuenlabrada, limítrofe con el municipio de Leganés. Este área incluye zonas con parques (parque de la Paz y parque Polvoranca). Diez pacientes tenían un perro en su domicilio.

Encontramos antecedentes personales que podían suponer una situación de inmunosupresión en 29 pacientes (19%). La distribución según el tipo de patología se recoge en la tabla 2, siendo la más frecuente la diabetes mellitus (DM) tipo 2 en 17 pacientes. Además, había tres pacientes en tratamiento con fármacos biológicos: una mujer de 62 años con artritis reumatoide tratada con adalimumab, un varón de 31 años con psoriasis que recibía metotrexato e infliximab y otra mujer de 60 años con psoriasis en tratamiento con metotrexato y adalimumab.

Habían realizado tratamiento previo de las lesiones 46 pacientes (31%). En 26 de los casos, fue con corticoide de alta potencia y/o antibiótico tópico.

El tiempo de evolución desde que los pacientes apreciaron la lesión hasta que acudieron a la consulta osciló entre medio mes y 42 meses. Hubo un pico de máxima frecuencia entre los 2 y los 6 meses (85 pacientes, 57%). De acuerdo a su morfología, clasificamos las lesiones en pápulas o placas eritematosas

de superficie lisa o descamativa sin formación de costra, lesiones papulonodulares eritematosas con costra en superficie ("Botón de Oriente"), lesiones eritematoanaranjadas (lupoides), lesiones psoriasiformes y un grupo aislado de pacientes (9%) con varias presentaciones clínicas o que no se podían encuadrar en los grupos anteriores y que recogemos en la tabla 3. Hubo 78 pacientes (52%) con pápulas o placas eritematosas de superficie lisa o descamativa sin formación de costra (figuras 1A y 1B), 50 pacientes (33%) con lesiones tipo "Botón de Oriente" (figura 2), siete pacientes (5%) con lesiones lupoides y un paciente (1%) con lesiones psoriasiformes (fi-

Tabla 3

LESIONES CUTÁNEAS NO CLASIFICABLES

MORFOLOGÍA DE LAS LESIONES	NÚMERO DE PACIENTES
Pápulas o placas eritematosas erosivas	4
Varias placas eritematosas con y sin costra en superficie	4
Pápulas eritematomarrónceas	3
Pápulas de color piel normal	1
Pápula eritematosa con erosión central y pápula eritematosa sin costra	1



Figura 1A. Pápula eritematosa sin costra en superficie.



Figura 1B. Múltiples pápulas eritematosas sin costra en superficie.

En 64 pacientes (43%) la lesión era única y en 85 (57%) se identificaron lesiones múltiples (figura 1B). Dentro de este último grupo, lo más frecuente (43 pacientes) fue encontrar dos o tres lesiones por cada paciente, pero hubo dos pacientes hasta con quince lesiones.

El tamaño de las lesiones en el momento de la consulta oscilaba entre 2 y 80 mm. En 49 pacientes (33%) el diámetro lesional fue de entre 2-5 mm.

Las lesiones se localizaron preferentemente en las extremidades: en 51 pacientes (34%) en las superiores y en 34 (23%) en las inferiores. En 27 (18%) pacientes se situaron en la cabeza y en 13 (9%) en el tronco. En 24 pacientes (16%) con lesiones múltiples, éstas se encontraron en más de una región anatómica que, además, estaban alejadas unas de



Figura 2. Lesión tipo Botón de Oriente.



Figura 3. Lesión con morfología psoriasiforme.

otras, por ejemplo en extremidades inferiores y cara o en extremidades superiores e inferiores.

En 115 pacientes (77%) las lesiones eran asintomáticas, mientras que 34 de ellos (23%) tenían algún síntoma: prurito (30 pacientes), dolor (3 pacientes) y sangrado (1 paciente).

En el estudio histopatológico de las lesiones cutáneas de 100 pacientes (67%) se evidenció, en la dermis superficial y profunda, un infiltrado inflamatorio linfohistiocítico difuso acompañado de células plasmáticas. Los histiocitos tenían morfología epitelioides y se disponían formando granulomas no necrotizantes (figura 4). Con tinciones de Ziehl-Neelsen, Giemsa y PAS no se identificaron micobacterias, leishmanias ni hongos. Estos hallazgos correspondían a una dermatitis granulomatosa no necrotizante (DGNN).

En 46 pacientes (31%) la biopsia cutánea mostró un denso infiltrado inflamatorio en la dermis superficial y profunda, constituido por linfocitos, células plasmáticas, histiocitos y algunas células gigantes multinucleadas. El citoplasma de algunos histiocitos contenía leishmanias (figura 5). El resultado del estudio histológico de un paciente fue compatible con

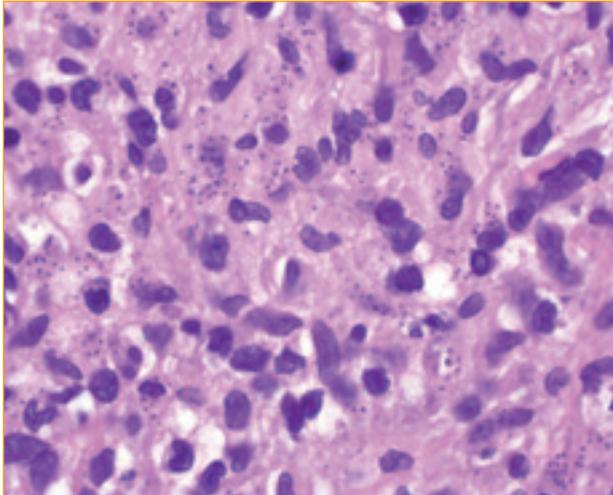


Figura 4. Biopsia de piel mostrando un infiltrado linfohistiocítico dérmico difuso, que incluye granulomas pobremente formados. Inset: gran aumento de un granuloma epitelióide no necrotizante.

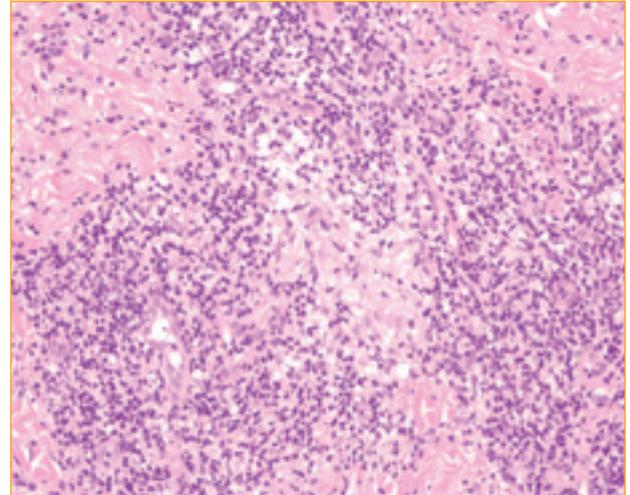


Figura 5. Numerosos histiocitos con leishmanias en su citoplasma.

una úlcera inespecífica, en otro con una dermatitis crónica linfohistiocitaria y en otro con una dermatitis granulomatosa de tipo sarcoido

Solicitamos la PCR para *Leishmania* sobre muestras cutáneas frescas o incluidas en parafina en 133 pacientes (89%). De ellos, en 131 (98%) el resultado fue positivo, identificándose *L. infantum* como la especie responsable de las lesiones. Los dos pacientes (2%) en los que la PCR fue negativa tenían una biopsia previa en que se habían identificado cuerpos de leishmania en el interior de los histiocitos, por lo que el resultado de la PCR lo interpretamos como un falso negativo. No se realizó la PCR en 16 pacientes (11%) debido a que el estudio histológico había sido diagnóstico al visualizar leishmanias en el interior de los histiocitos.

En el cultivo de muestras cutáneas realizado a 11 pacientes se aisló *Leishmania* spp.

En treinta y nueve pacientes se completó el estudio con una analítica que incluía hemograma, bioquímica y autoinmunidad. No se encontraron alteraciones relevantes, salvo en una paciente con artritis reumatoide con anticuerpos antinucleares (ANA) y anticuerpos anti DNA positivos; un paciente VIH con neutropenia y una paciente con antecedentes personales de neutropenia idiopática, donde se evidenciaron neutropenia, anti Ro 60 y ANA positivos.

Se realizó una radiografía de tórax a 16 pacientes. En una mujer de 43 años se identificó un granuloma pulmonar. En otro paciente varón de 48 años sin antecedentes personales de interés, la intradermoreacción de Mantoux fue mayor de 10 mm a las 72 horas.

Encontramos manifestaciones sistémicas en 6 pacientes: un varón de 47 años con pérdida de peso que no se consideró secundaria a la infección por *Leishmania*, puesto que no tenía otras alteraciones

en la exploración física (no se objetivaron adenopatías ni organomegalias abdominales) ni en las pruebas complementarias y cinco pacientes (cuatro varones y una mujer) con adenopatías de localización en cabeza y cuello. De ellos, sólo se encontraron antecedentes personales de inmunosupresión en un varón con enfermedad renal crónica grado 3B. La morfología de las lesiones cutáneas de los pacientes con adenopatías fue en tres de tipo papulonodular eritematoso con costra en superficie y en los otros dos se objetivaron pápulas eritematosas sin costra. Uno de los pacientes con este segundo tipo de lesiones presentó hasta once, el resto tenían lesiones únicas. En cuatro de los casos, los grupos ganglionares afectados correspondían a territorios de drenaje de la zona donde se situaban las lesiones cutáneas de leishmaniasis. En la analítica y en la ecografía abdominal no se encontraron alteraciones. El estudio patológico ganglionar de cuatro pacientes realizado mediante punción aspiración con aguja fina (PAAF) o de un paciente mediante análisis de una adenopatía reseca, no evidenció alteraciones en un paciente, en otro fue compatible con una linfadenitis reactiva inespecífica y en los otros tres mostró hallazgos compatibles con una linfadenitis por *Leishmania*.

Recibieron tratamiento específico de las lesiones 103 pacientes (69%). En 78 de éstos se empleó el antimonio de meglumina intralesional (il). El número de infiltraciones realizadas por lesión y paciente osciló entre una y ocho, con un intervalo de una semana entre dosis. La cantidad de fármaco empleado en cada sesión fue de entre 0,5 y 1 cc/lesión. Se logró la curación de 62 pacientes (79%) y los 16 restantes están pendientes de completar tratamiento, pero presentan buena evolución de las lesiones. Destacamos la aparición de reacción inflamatoria perilesional secundaria al tratamiento en nueve casos (6%).

Catorce pacientes realizaron pautas de tratamiento combinado con antimonio de meglumina

il y otras terapias. Las formas detalladas de tratamiento empleadas en cada caso se recogen en la tabla 4. Se obtuvo la resolución de las lesiones en todos los casos. La crioterapia se usó con éxito en monoterapia en nueve pacientes. El número de sesiones aplicadas sobre cada lesión osciló entre una y tres.

Dos de los pacientes con linfadenitis por leishmania recibieron anfotericina B liposomal intravenoso (3mg/kg/día, 5 dosis), con curación de las lesiones. La otra paciente con linfadenitis por leishmania curó de forma espontánea, tanto de las lesiones cutáneas como de las adenopatías; el paciente con linfadenitis reactiva recibió tres infiltraciones de antimonio de meglumina il con resolución de las lesiones y el que presentaba adenopatías laterocervicales con estudio citológico normal, curó después de cuatro infiltraciones de antimonio de meglumina il.

Hubo 32 pacientes (21%) que no realizaron tratamiento específico. De ellos, nueve se perdieron en el seguimiento y dejaron de acudir a consultas, quince presentaron resolución espontánea y en ocho la biopsia cutánea resultó diagnóstica y terapéutica.

Por último, hay 14 pacientes (10%) que están pendientes de iniciar tratamiento de las lesiones.

Discusión

La serie de casos que presentamos destaca por el elevado número de pacientes con LC para un tiempo de 17 meses y un lugar determinado. En series publicadas previamente en España, el número de casos es menor y los periodos de seguimiento mayores ⁶⁻⁹.

En otros trabajos hubo un discreto predominio en la población femenina ^{8,9}, que difiere con la ligera mayor incidencia, no significativa, en varones que hubo en nuestra serie.

Además, destaca la baja incidencia de LC en edad pediátrica (8% en menores de 14 años) a dife-

rencia de series previas en que encontramos cifras de 56% de los casos en menores de 5 años⁷, 38% en menores de 12 años ⁸ o 30% en menores de 14 años⁹. Los autores explican la mayor incidencia en la infancia por una inmadurez del sistema inmune, mayor penetrabilidad de la piel y más prolongada exposición al vector.

El lugar de residencia de la mitad de los pacientes correspondía a una zona con parques y áreas recreativas. Probablemente este factor geográfico contribuye a la proliferación de los vectores, creando focos de leishmaniasis. El tiempo de evolución de las lesiones cuando los pacientes consultaron, fue discretamente inferior (2-6 meses) a lo observado en otros trabajos (media de entre 6-8 meses) ⁷⁻⁹. El tamaño de las lesiones más frecuente en nuestra serie (2-5 mm) fue ligeramente menor a lo encontrado en estudios previos en los que la media de las lesiones tenían en torno a 1 cm de diámetro ⁷⁻⁹.

La forma de presentación clínica de la LC más frecuente en nuestro trabajo fue la de pápulas o placas eritematosas de superficie lisa o descamativa, sin formación de costra y con lesiones múltiples. Este hallazgo difiere con el de otras series ⁶⁻⁹ en que la morfología de las lesiones más habitual fue la de lesión única papulonodular con costra (Botón de Oriente). En los últimos años se observan con mayor frecuencia en la práctica clínica diaria formas atípicas de LC. Una de ellas es la que se presenta con lesiones múltiples ¹⁰. Se caracteriza por la presencia de varias pápulas o nódulos eritematosos asintomáticos, muy similares entre sí salvo por el tamaño. Las lesiones se pueden localizar próximas o alejadas unas de otras ¹⁰. El desarrollo de estos cuadros puede explicarse por la interacción de varios factores: unos dependientes de *Leishmania* (especie, tropismo, capacidad infectiva, patogenicidad y virulencia), otros dependientes del vector (número de picaduras del mosquito, especie y composición de la saliva) y otros dependientes del

Tabla 4
PACIENTES QUE RECIBIERON TRATAMIENTO COMBINADO

PAUTAS DE TRATAMIENTO	NÚMERO DE PACIENTES
Crioterapia en una lesión y resolución espontánea del resto	3
Resolución con biopsia de una lesión e infiltración con antimonio de meglumina il en el resto	1
Antimonio de meglumina il x 2 + crioterapia	8
Antimonio de meglumina il x 3 + crioterapia	5
Antimonio de meglumina il x 4 + extirpación	1
Antimonio de meglumina il x 9 + dos sesiones de terapia fotodinámica + itraconazol 100 mg cada 24 horas oral por 10 días	1
Itraconazol 100 mg/12 h oral, crioterapia x 1	1
IL x 5 abdomen, x 6 piernas, anfotericina B liposomal (3 mg/kg/día iv total de 10 días) *	1

* Varón de 31 años con psoriasis en tratamiento con metotrexato e infliximab.

huésped (situación inmunitaria y susceptibilidad genética) ¹.

A diferencia de otras revisiones publicadas ⁷⁻⁹, en nuestra serie la localización más frecuente de las lesiones fueron las extremidades. Esto se podría explicar porque, probablemente, la mayor parte de las picaduras se produjeron en los meses de verano, cuando por el tipo de vestimenta las extremidades están descubiertas.

En aproximadamente dos terceras partes de la muestra estudiada, el estudio histológico de las lesiones cutáneas fue compatible con una dermatitis granulomatosa no necrotizante (DGNN) y, por tanto, no resultó concluyente por sí mismo. En estos casos, la realización de PCR para *Leishmania* a partir de biopsias cutáneas fue decisiva para llegar al diagnóstico definitivo de LC. La PCR es un método diagnóstico de alta sensibilidad (75-77% a 100%) y especificidad (100%) para la detección del ADN del parásito en frotis de exudados o en tejidos biopsiados ¹¹. De acuerdo a la literatura revisada ¹¹⁻¹⁵ resulta útil en lesiones con escaso o nulo número de parásitos y hallazgos compatibles con dermatitis granulomatosa en la microscopía convencional. La técnica puede realizarse tanto en tejidos frescos ^{11,15} como en tejidos incluidos en parafina ¹²⁻¹⁴. Además, permite la identificación de especie de *Leishmania* utilizando cebadores específicos ^{13,15}. Los autores proponen que la realización de la PCR para *Leishmania* debería incluirse de forma rutinaria en el estudio de dermatitis granulomatosas inespecíficas aunque el paciente presente lesiones clínicas atípicas o poco sospechosas de LC ¹²⁻¹⁴. Tres pacientes desarrollaron linfadenitis por *Leishmania*. En ésta se produce la inflamación de un territorio ganglionar, asociada o no a lesiones cutáneas ¹⁶⁻¹⁸. No implica la afectación sistémica. Su patogenia no está bien explicada, pero se propone que podría ocurrir por diseminación de macrófagos con amastigotes a los ganglios linfáticos o por el transporte de antígenos de leishmania por células de Langerhans de la piel a los ganglios linfáticos ¹⁶⁻¹⁸. En ocasiones se desarrolla después de realizar tratamiento de las lesiones cutáneas de forma intralesional ¹⁶⁻¹⁸.

Los objetivos del tratamiento de la LC es acelerar el proceso de curación, minimizar el riesgo de cicatriz residual antiestética y prevenir la progresión de la enfermedad ^{19,20}. Se han empleado múltiples modalidades terapéuticas, incluyendo fármacos tópicos, intralesionales, sistémicos y métodos físicos ^{1,9,19,20}. Sin embargo, no hay ensayos clínicos bien diseñados para cada uno de ellos, por lo que el nivel de evidencia no está bien establecido ^{19,20}. En España se utiliza el antimoniato de meglumina il como fármaco de primera elección en el tratamiento de LC con lesiones únicas y de pequeño tamaño (menores de 4 cm), aunque también hay casos descritos en la literatura con lesiones múltiples o de mayor tamaño en que se ha utilizado este fármaco con

buenos resultados ⁹. La forma de administración es la inyección desde la periferia de la lesión hasta su completo blanqueo ⁹. Las dosis y pautas empleadas son variables ⁹. En nuestro estudio el tratamiento de elección en 78 pacientes fue el antimoniato de meglumina il, logrando la resolución de las lesiones en el 79% de los casos, con resultados estéticos aceptables y escasa toxicidad sistémica. En las series previas ^{8,9} también se utilizó este fármaco en la mayoría de los pacientes, logrando la curación de los mismos.

La crioterapia con nitrógeno líquido se emplea fundamentalmente en niños y es, en general, eficaz y carente de riesgos ^{1,9,19}. En pieles de tonalidad oscura puede dejar hipopigmentación residual. De manera similar a lo empleado en nuestros pacientes, se puede utilizar de forma aislada o en combinación con otros tratamientos como el antimoniato de meglumina il ⁹.

La terapia fotodinámica se emplea cada vez con más frecuencia para la LC, con resultados cosméticos excelentes ¹⁹. Las dosis requeridas no están bien definidas, pero en algunos de los artículos revisados, se describe una sesión semanal durante un mes ¹⁹. Su mecanismo de acción parece derivar de la destrucción tisular y de los macrófagos ¹⁹. Además, se puede combinar con otros tratamientos ¹⁹. En uno de nuestros pacientes, que presentaba una placa eritematosa con costra en la pierna derecha, empleamos la terapia fotodinámica como tratamiento, después de haber fracasado el antimoniato de meglumina il que inyectamos en nueve ocasiones. Dado que después de dos sesiones no observamos mejoría, decidimos iniciar itraconazol oral (100 mg/24 horas durante 10 días), obteniéndose la curación. En lesiones aisladas y de pequeño tamaño se ha empleado la exéresis quirúrgica como alternativa terapéutica ^{1,8,9}. Así en ocho de nuestros pacientes se empleó la biopsia – extirpación como técnica diagnóstica y, a la vez, terapéutica.

En la literatura revisada, algunos de los criterios para iniciar tratamiento sistémico en la LC son los que aparecen recogidos en la tabla 5 ^{21,22}. Durante años,

Tabla 5
INDICACIONES DE TRATAMIENTO SISTÉMICO
EN LA LC ^{20,21}

Lesiones de gran tamaño (>4 cm)
Múltiples lesiones (> 5)
Falta de respuesta a tratamiento tópico
Datos de diseminación locoregional
Pacientes inmunodeprimidos (VIH)
Lesiones en cara, orejas
Lesiones en manos y pies
Lesiones localizadas en zonas que puedan originar déficit funcionales

los fármacos de elección dentro de esta modalidad terapéutica han sido los antimoniales pentavalentes. Sin embargo, debido a su importante toxicidad renal y cardíaca y a sus efectos adversos (artralgias, mialgias, fiebre, vómitos, elevación de enzimas hepáticas), en los últimos años se está sustituyendo por la anfotericina B liposomal con menor número de complicaciones¹⁹⁻²². Ésta se emplea a dosis de 1-1,5 mg/kg/día iv durante 21 días o 3 mg/kg/día durante 10 días¹⁹⁻²². En los dos pacientes de nuestra serie que usamos este fármaco no se produjeron efectos adversos y se logró la curación.

Los azoles (ketoconazol e itraconazol) actúan inhibiendo la síntesis de ergosterol en la membrana del parásito. Las dosis a las que se han empleado son variables y los resultados contradictorios^{1,9}.

En algunas ocasiones la LC del Viejo Mundo es

autorresolutiva en un periodo de meses, como ocurrió en quince de nuestros pacientes. Sin embargo, en general, se debe tratar porque afecta a áreas expuestas cosméticamente importantes, por el riesgo de envolver a mucosas y por el riesgo de diseminación^{1,9}.

Para concluir, queremos destacar que en la serie de pacientes con LC que presentamos, tanto la forma clínica de las lesiones (múltiples pápulas eritematosas sin costra) como los hallazgos histopatológicos de las mismas (dermatitis granulomatosa no necrotizante en la que no se observaron leishmanias) no son los habituales en los casos de LC en España. Además, de acuerdo a nuestra experiencia, creemos que la determinación de la PCR de *Leishmania* se debería incluir en el estudio de pacientes con DGNN sin otros hallazgos en áreas endémica.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 García-Almagro D. Leishmaniasis cutánea. *Actas Dermosifiliogr* 2005; 96:1-24.
- 2 Brote comunitario de Leishmaniasis en los municipios de Fuenlabrada, Leganés y Getafe (2009-2011). Área 9. Servicio Madrileño de Salud. Marzo 2012.
- 3 Informe seguimiento Leishmaniasis A9-30.09.2011. Servicio Madrileño de Salud. Septiembre 2011.
- 4 Molina R, Jiménez MI, Cruz I, Iriso A, Martín-Martín I, Sevillano O, Melero S, Bernal J. The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania infantum* in Spain. *Vet Parasitol*. 2012; 190: 268-271.
- 5 Jiménez M, González E, Iriso A, Marco E, Alegret A, Fúster F, Molina R. Detection of *Leishmania infantum* and identification of blood meals in *Phlebotomus perniciosus* from a focus of human leishmaniasis in Madrid, Spain. *Parasitol Res*. 2013;112:2453-2459.
- 6 Albero Blanes F, Martínez Sánchez C y Román Macia P. Leishmaniasis cutánea. Alcoy, zona endémica. *Actas Dermosifiliogr* 1979; 70: 457-84.
- 7 Alcalde Alonso M, Delgado Florencio V y Naranjo Sintés R. Leishmaniasis cutáneas en Granada: características clínicas. *Actas Dermosifiliogr* 1989; 80: 267-72.
- 8 Daudén E, García C, Zarco C, López S e Iglesias L. Leishmaniasis cutánea en el foco endémico de Madrid. Estudio de 31 casos. *Actas Dermosifiliogr* 1990; 81: 395-404.
- 9 Urrutia S, García C, Schoendorff C, Sáez A, Olivares M y García Almagro D. Leishmaniasis cutánea en la provincia de Toledo. Estudio de 43 pacientes. *Actas Dermosifiliogr* 2000; 91: 1-8.
- 10 Maniscalco M, Noto G, Zichichi L, Veraldi S. Multifocal cutaneous leishmaniasis: a new clinical presentation of the disease. *Acta Derm Venereol*. 2007; 87: 275.
- 11 Martín-Ezquerro G, Fisa R, Riera C, Rocamora V, Fernández-Casado A, Barranco C et al. Role of *Leishmania* spp. Infestation in nondiagnostic cutaneous granulomatous lesions: report of a series of patients from a Western Mediterranean area. *Br J Dermatol*. 2009; 161: 320-5.
- 12 Böer A, Blödorn-Schlicht N, Wiebels D, Steinkraus V, Falk TM. Unusual histopathological features of cutaneous leishmaniasis identified by polymerase chain reaction specific for *Leishmania* on paraffin-embedded skin biopsies. *Br J Dermatol*. 2006; 155: 815-9.
- 13 Safaei A, Hossein Motazedian M, Vasei M. Polymerase chain reaction for diagnosis of cutaneous leishmaniasis in histologically positive, suspicious and negative skin biopsies. *Dermatology*. 2002; 205: 18-24.
- 14 Tordoni G, Giaccherini R, Pacenti L, Miracco C, Zazzi M, Zanelli G. Cutaneous leishmaniasis: usefulness of PCR on paraffin-embedded skin biopsies as part of routine investigation. *Ann Trop Med Parasitol*. 2007; 101: 745-9.
- 15 Karamian M, Motazedian MH, Fakhar M, Jowkar F, Reza-nezhad. Atypical presentation of Old-World cutaneous leishmaniasis, diagnosis and species identification by PCR. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008 Aug; 22: 958-62.
- 16 Esfandiarpour I, Dabiri S H and Yusefi K. Dry type leishmanial lymphadenitis presented as two large parotid and cervical masses. *International Journal of Dermatology* 2007; 46: 711-714.
- 17 Harms G, Zenk J, Martin S, Kokozidou M, Püschel W, Bienzle U et al. Localized lymphadenopathy due to leishmanial infection. *Infection* 2001; 29: 355-356.
- 18 Cardot-Leccia N, Benchetrit M, Audoin J, Haudeborug J, Karsenty Jean M, Estran C et al. Localized leishmanial lymphadenitis: an unusual manifestation of the disease in an immunocompetent patient. *Histopathology* 2009; 55: 124,125.
- 19 Ameen M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. *Clinical and experimental Dermatology* 2010; 35: 699-705.
- 20 Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.
- 21 Emilio Palumbo, MD . Current Treatment for Cutaneous Leishmaniasis: A Review. *American Journal of Therapeutics* 2009; 16: 178-182.
- 22 J. Blum. Treatment of cutaneous leishmaniasis among travellers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004; 53: 158-166.

SEGUIMIENTO INMUNOLÓGICO Y PARASITOLÓGICO DE PACIENTES INMUNOCOMPETENTES DESPUÉS DEL TRATAMIENTO FRENTE A LA LEISHMANIASIS CUTÁNEA Y VISCERAL

Eugenia Carrillo¹, Laura Fernández¹, Carmen Sanchez¹, Laura Botana-Veguillas¹, Ana Victoria Ibarra-Meneses¹, Valter dos Anjos Almeida¹, Sheila Ortega¹, Giorgi Babuadze¹, Sidney de Almeida Ferreira¹, Marta Aguado², Luis Horrillo², Alberto Romero-Maté², Juan Victor San Martin² y Javier Moreno¹

¹ Centro Colaborador de la Organización Mundial de la Salud para la Leishmaniasis. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

² Medicina interna y Dermatología. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

El tratamiento farmacológico de la leishmaniasis activa es altamente efectivo en condiciones de competencia inmunológica y, en consecuencia, la presencia parasitaria disminuye rápidamente y la sintomatología clínica del paciente remite (1). La cura farmacológica de la leishmaniasis visceral y cutánea, y en algunos casos la resolución espontánea de leishmaniasis cutánea, conlleva el desarrollo de una respuesta celular específica de tipo Th1 frente al parásito (2). Esta respuesta de memoria le confiere al individuo inmunidad efectiva frente a una nueva infección por *Leishmania*. Actualmente no se conoce con claridad el tiempo que tarda en desarrollarse una respuesta celular específica efectiva, así como la duración de dicha respuesta en el tiempo. Una de las razones de este desconocimiento es la dificultad de cuantificar esta capacidad de respuesta celular mediante las técnicas diagnósticas de leishmaniasis habituales. Los ensayos diagnósticos convencionales son muy útiles para la detección de la respuesta humoral policlonal producida frente a *Leishmania* y de la presencia parasitaria. Para evaluar la respuesta celular inducida por la leishmaniasis se ha usado tradicionalmente el ensayo de leishmanina en piel

(LST), que mide la respuesta de hipersensibilidad retardada para la leishmaniasis (3). No obstante, debido a que no existe una leishmanina homologada en Europa para realizar esta técnica, esta prueba no es admitida por los comités de bioética y ha sido necesario buscar otros ensayos alternativos.

En nuestro trabajo de laboratorio, para conocer el estado inmunológico del individuo respecto a la infección/tratamiento hemos incluido, en el panel de diagnóstico tradicional, herramientas como la técnica de linfoproliferación celular *in vitro* ó técnicas de liberación de Interferón gamma (IFN- γ) (IGRA) (4). En ambos casos se emplea el Antígeno Soluble de *Leishmania* (SLA) para estimular Células Mononucleares de Sangre Periférica (PBMC) o sangre completa como en el caso del IGRA tipo *Quantiferon*, y se aplican diferentes técnicas para la evaluación cuantitativa de las citoquinas liberadas (5, 6).

La aplicación de las técnicas de diagnóstico convencional, así como las descritas para estudios de inmunología celular en muestras de sangre de individuos inmunocompetentes adultos con leishmaniasis visceral o cutánea residentes en la zona del brote de Fuenlabrada, ha permitido realizar el seguimien-

to en el tiempo de estos individuos y contribuir al conocimiento de su estado clínico, parasitológico e inmunológico. Para una mejor comprensión de los resultados obtenidos, éstos se detallan a continuación según la manifestación clínica de los pacientes:

- Los individuos con **leishmaniasis visceral** activa presentan parásitos, detectables por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y cultivo en prácticamente todas las punciones de médula ósea, si bien la sensibilidad obtenida en la muestra de sangre ha sido menor (75% para la PCR y 11% en el cultivo en medio NNN - Novy, McNeal, Nicolle). La respuesta humoral fue fácilmente medible mediante Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA), inmunofluorescencia indirecta (IFI) o test inmunocromatográficos para el antígeno de *Leishmania* rK39, con una sensibilidad del 89-100% según la técnica empleada. Los ensayos de evaluación de la respuesta celular específica mostraron respuesta positiva en el 22% de los individuos, aunque con un índice de linfoproliferación bajo y una producción de citoquinas nula o muy baja, siendo de tipo Th2 en su caso.

Tras un mes de tratamiento, las pruebas parasitológicas negativizaron en estos pacientes, de forma que son las técnicas serológicas las que nos revelan la infección pasada. Por otro lado, la respuesta celular específica se desarrolló en algunos individuos y esta se asocia con la producción de citoquinas de tipo Th1. Tras el alta clínica a los tres meses, la respuesta humoral continuó siendo patente en los pacientes (el 73-87% se mantienen positivos dependiendo de la técnica), ya que esta se mantiene durante años. En este momento, la respuesta celular es patente en el 93% de los pacientes tras la cura y se acompaña de una producción significativa de IFN- γ , TNF- α (Factor de Necrosis Tumoral), IL-2 (Inter Leukina) y IL-10 comparando con la situación de la enfermedad activa y/o individuos controles no infectados endémicos (Figura 1).

Las características epidemiológicas de la zona del brote (mantenimiento del contacto con el parásito) y el sistema inmune competente del individuo producen que la respuesta celular específica frente a *Leishmania* se mantenga en el tiempo. Los estudios realizados en Fuenlabrada muestran que tras la cura clínica, individuos adultos curados de leishmaniasis visceral mantienen las pruebas de inmunología celular positivas hasta al menos 8 meses. Debido a la importancia de esta respuesta en la protección frente a una nueva infección por *Leishmania*, es necesario analizar a largo plazo cómo evoluciona en los individuos que viven en una zona endémica para leishmaniasis.

- Los individuos con **leishmaniasis cutánea** activa causada por *Leishmania infantum* presentaron parásitos detectables en prácticamente la totali-

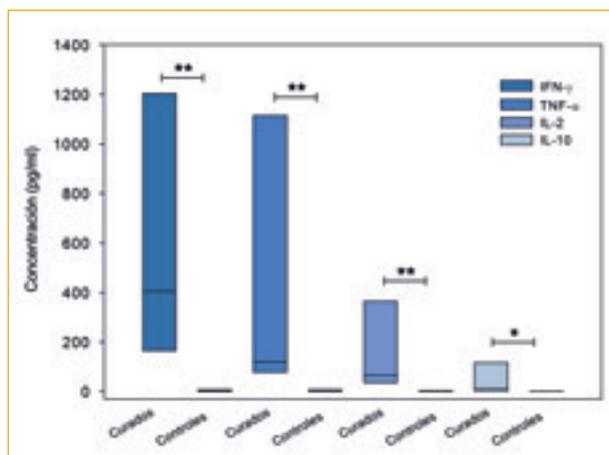


Figura 1. Expresión de citoquinas específicas producidas tras estimular con 10 μ g/ml de SLA liofilizado mediante el test IGRA Quantiferon. Los resultados representan las medianas y desviaciones estándar de los resultados obtenidos de 5 pacientes adultos inmunocompetentes curados y 5 controles endémicos no infectados. La comparación estadística pareada mediante Mann-Whitney mostró diferencias significativas para IFN- γ ($p=0,0079$), TNF- α ($p=0,0079$), IL-2 ($p=0,0079$), IL-10 ($p=0,0159$) pero no para IL-4 ($p \geq 0,05$).

dad de biopsias de la lesión. No obstante, el cultivo y la PCR de sangre periférica sólo detectaron al 5% de estos individuos infectados. La respuesta humoral es prácticamente inexistente en estos pacientes al tratarse de una lesión local y por tanto las técnicas serológicas no se emplean para el diagnóstico convencional de la leishmaniasis cutánea. Los ensayos de evaluación de la res-

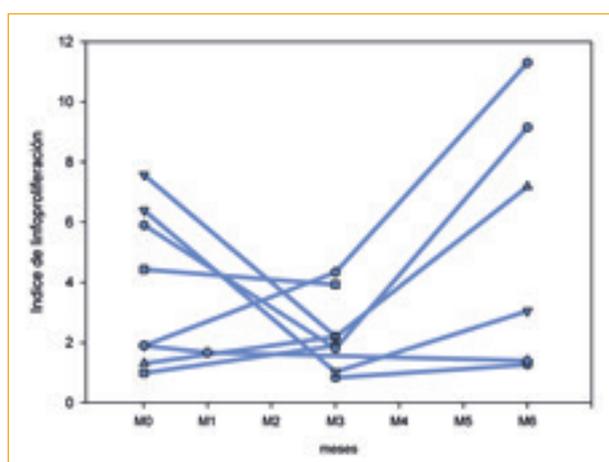


Figura 1. Respuesta linfoproliferativa específica frente a SLA (antígeno soluble de *Leishmania*) de 7 pacientes adultos inmunocompetentes antes del tratamiento (mes 0) y tras la cura clínica de leishmaniasis cutánea (mes 3 y mes 6). Los resultados se muestran como un índice de linfoproliferación de la estimulación específica por SLA respecto a la ausencia de estimulación. Se considera negativo un índice $\leq 2,0$.

puesta celular específica son técnicas más apropiadas para confirmar la leishmaniasis cutánea, empleando para ello una muestra poco invasiva como la sangre. No obstante, en nuestro estudio sólo el 45% de los individuos diagnosticados de forma clínica y mediante análisis histológico de la lesión pudieron ser confirmados empleando esta técnica (Figura 2).

En general, 3 meses después del tratamiento, cuando los pacientes recibieron el alta clínica, la respuesta celular específica inicial se mantuvo o disminuyó tal y como muestran los ensayos de linfoproliferación específica realizados (Figura 2). A los seis meses tras el tratamiento, el 56% de los individuos con leishmaniasis cutánea presentaron una respuesta celular patente. Debido al gran número de individuos que aún están en el proceso

de desarrollarla, es aconsejable estudiar la evolución de esta respuesta en un tiempo mayor, ya que la técnica de linfoproliferación además de ser un test que confirma la infección por *Leishmania*, nos permite evaluar la respuesta del paciente al tratamiento y predecir su posible respuesta frente a una nueva infección.

Por todo lo anterior, para evaluar la respuesta farmacológica frente a la leishmaniasis y conocer la duración de la inmunidad tras la cura clínica, es necesario el estudio de los factores clínicos, inmunológicos y parasitológicos a lo largo del tiempo, tal y como hemos realizado con los pacientes implicados en el brote de la Comunidad de Madrid. Además, el seguimiento de estos individuos puede ayudar a determinar perfiles característicos que contribuyan a la identificación de biomarcadores de cura o protección.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ McGwire BS, Satoskar AR. Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. QJM : monthly journal of the Association of Physicians. 2014;107(1): 7-14.
- ² Saha S, Mondal S, Ravindran R, Bhowmick S, Modak D, Mallick S, et al. IL-10- and TGF-beta-mediated susceptibility in kala-azar and post-kala-azar dermal leishmaniasis: the significance of amphotericin B in the control of *Leishmania donovani* infection in India. J. Immunol. 2007;179(8): 5592-603.
- ³ Silveira FT, Lainson R, Crescente JA, de Souza AA, Campos MB, Gomes CM, et al. A prospective study on the dynamics of the clinical and immunological evolution of human *Leishmania (L.) infantum chagasi* infection in the Brazilian Amazon region. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2010;104(8): 529-35.
- ⁴ Lalvani A, Pareek M. Interferon gamma release assays: principles and practice. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 2010;28(4): 245-52.
- ⁵ Singh OP, Gidwani K, Kumar R, Nysten S, Jones SL, Boelaert M, et al. Reassessment of immune correlates in human visceral leishmaniasis as defined by cytokine release in whole blood. Clinical and vaccine immunology: CVI. 2012;19(6): 961-6.
- ⁶ Ribeiro-de-Jesus A, Almeida RP, Lessa H, Bacellar O, Carvalho EM. Cytokine profile and pathology in human leishmaniasis. Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica. 1998;31(1): 143-8.

DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO Y MOLECULAR DE MUESTRAS CLÍNICAS HUMANAS PROCEDENTES DEL BROTE DE LEISHMANIASIS DEL ÁREA 9 DE LA COMUNIDAD DE MADRID (2009-2014)

María Flores-Chavez, Emilia García, Sheila Ortega, Carmen Sánchez, Israel Cruz, Javier Nieto y Carmen Chicharro

Unidad de Leishmaniasis. Centro Colaborador de la Organización Mundial de la Salud para la Leishmaniasis. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III

Resumen

Para la confirmación de una sospecha clínica de leishmaniasis es importante contar tanto con los resultados del diagnóstico parasitológico/molecular como con los de las técnicas serológicas, que junto con una buena historia clínica y datos epidemiológicos, permite realizar el diagnóstico certero de la infección en humanos. Debido a la mayor especificidad de las pruebas parasitológicas, estas se consideran las pruebas de referencia en el diagnóstico de la leishmaniasis humana. En este capítulo se describen los resultados obtenidos mediante PCR y cultivo de las muestras analizadas en la Unidad de Leishmaniasis, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, desde enero de 2009 a julio de 2014. Durante este periodo se analizaron 4.573 muestras mediante PCR y 2.978 mediante cultivo, de ellas fueron positivas 1.171 (25,6%) y 391 (13,1%), respectivamente. Del total de muestras analizadas mediante las dos pruebas en paralelo, el 32,8% de las muestras PCR positivas lo fueron también en cultivo (375/1.144). Sólo en el 0,09% de las muestras PCR negativas, el cultivo fue positivo (3/3.308). El éxito de aislamiento y criopreservación de cepas de *Leishmania* a partir de cultivos positivos fue del 88% (330 aislados). De los 3.470 casos con-

firmados en el periodo de estudio, 439 pacientes procedían del Área 9 de la Comunidad de Madrid (CM), representando el 72,7% de los casos de leishmaniasis en la CM, con una frecuencia mayor de casos cutáneos que de casos de leishmaniasis visceral. En conclusión, la PCR tiene una alta sensibilidad en la detección de *Leishmania* en cualquier tipo de muestra. El cultivo tiene como principal función el aislamiento del parásito para estudios como los de epidemiología molecular.

Introducción

Como se ha descrito en capítulos anteriores, la leishmaniasis autóctona en España está causada únicamente por *Leishmania infantum*, parásito responsable tanto de las formas cutáneas como viscerales de la enfermedad. En contraste, las leishmaniasis importadas están causadas por diferentes especies, dependiendo de la región geográfica donde se haya producido la infección^{1,2}, no detectándose mayor frecuencia de ninguna de las especies en particular.

Para el diagnóstico de laboratorio de la leishmaniasis se pueden realizar técnicas parasitológicas y/o serológicas, cuyos resultados deben ser interpretados en el marco de una buena historia clínica del paciente. Si bien hasta la fecha las técnicas parasitológicas son las consideradas de referencia debido a

su mayor especificidad ³, es importante indicar que es el diagnóstico serológico el que en determinadas circunstancias complementa y define la sospecha clínica de leishmaniasis en un paciente.

Todas las especies de *Leishmania* pueden ser detectadas mediante observación microscópica, pero las diferencias en tamaño y forma son muy sutiles y no permiten la diferenciación de especie. El tiempo de ejecución de esta técnica es corto y comprende el tiempo invertido en la tinción de la muestra más el empleado en la observación microscópica (aproximadamente 1 hora), sin embargo, su sensibilidad y especificidad son limitadas, ya que dependen de la carga parasitaria y de la experiencia y formación del observador ⁴. Se pueden analizar preparaciones teñidas de muestras de médula ósea, biopsias cutáneas o cualquier otra muestra particular en función de la manifestación clínica que presente el paciente.

Tanto la sensibilidad como la especificidad de este diagnóstico aumentan considerablemente si se realiza el cultivo de la muestra clínica en el medio de cultivo apropiado, o si se emplean técnicas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección del parásito ⁵⁻⁷.

La tabla 1 resume las herramientas parasitológicas más ampliamente utilizadas en el diagnóstico de la leishmaniasis, su sensibilidad y el tiempo que requiere su ejecución.

En la Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas del Centro Nacional de Microbiología (ISCI-II), las pruebas diagnósticas de rutina son el cultivo y la detección de ADN del parásito mediante PCR.

Objetivo

Estudio de la sensibilidad del cultivo y del diagnóstico molecular, así como descripción de su aplicación en el estudio del brote de leishmaniasis del Área 9 de la Comunidad de Madrid.

Material y métodos

Cultivo de *Leishmania* en medio NNN (Novy-MacNeil-Nicolle)

Para la preparación del medio bifásico NNN, se disuelve en 450 ml de agua destilada, 10 g de agar bacteriológico (Pronadisa, Laboratorios Conda, España) y 3 g de cloruro sódico; se autoclava (120 °C/20 min) y se conserva a 4 °C hasta su uso. La sangre de conejo se defibrina utilizando perlas de vidrio y agitación moderada, se conserva a temperatura ambiente si se utiliza el mismo día o a 4 °C un periodo máximo de 18 horas.

Para preparar el medio NNN, propiamente dicho, se funde el agar bacteriológico en un microondas y se deja enfriar a 56 °C. Posteriormente se mezclan 100 ml de agar, 50 ml de sangre de conejo defibrinada y 10 ml de antibióticos (penicilina 10 000 U/ml; estreptomycin 10.000 U/ml). En cada tubo de cultivo se dispensan 2 ml de esta mezcla manteniendo el tubo inclinado para que se forme un "pico de flauta". Los tubos se conservan a 4 °C hasta su uso.

El inóculo de la muestra se realiza añadiendo a un tubo de cultivo atemperado 200 µl de la muestra de sangre, médula ósea o cualquier otro fluido. En el caso de que la muestra clínica sea una biopsia de tejido, como paso previo esta se homogeniza usando como diluyente NET 10 (NaCl 0,1 M; EDTA 10 mM, Tris 10 mM, pH 8). Los tubos inoculados se mantienen a 27 °C hasta su revisión y pase semanal. En cada pase, el total del inóculo es transferido a un nuevo tubo de cultivo. Un cultivo es considerado positivo, cuando se observan microscópicamente (400x) promastigotes. Si después de cuatro pases (4 semanas) no se observan parásitos al microscopio, el cultivo se considera negativo.

Tabla 1

CARACTERÍSTICAS DE LAS PRINCIPALES TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO Y MOLECULAR PARA LA LEISHMANIASIS

TÉCNICA	TIEMPO DE EJECUCIÓN	TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	REF.	UTILIDAD
Observación microscópica	1 hora	Médula ósea	64-92%	8,9	Hospitales
		Sangre completa	3-30%	10	
		Biopsias	94-96%	9	
Cultivo	1 mes	Médula ósea	53-70%	11	Hospitales de referencia Laboratorios de referencia
		Sangre completa	61%	12	
		Biopsias	95-96%	11	
PCR	6 horas	Médula ósea	82-100%	6,	Hospitales de referencia Laboratorios de referencia
		Sangre completa	70-100%	12-15	
		Biopsias			

Fuente: 8) Pintado et al., 2001. 9) Sundar y Rai, 2002. 10) Osman 1998. 11) Siddig et al., 1988. 12) Belhadj et al., 2002. 13) Piarroux et al., 1994. 14) Cascio et al., 2002. 6) Cruz et al., 2002. 15) Salotra et al., 2001.

DetECCIÓN MOLECULAR DE *Leishmania*

Extracción de ADN

La purificación de ADN a partir de muestras clínicas se realiza mediante el uso de columnas, con el kit Qiagen Blood® mini kit, siguiendo las instrucciones establecidas por los fabricantes, manualmente o utilizando el sistema automatizado Qiacube®, eluyendo el ADN con agua en un volumen igual al volumen de la muestra de partida. Las muestras de sangre, médula ósea u otro fluido líquido se procesan siguiendo las instrucciones de fluidos; las biopsias de tejido frescas o desparafinadas se digieren previamente con proteinasa K entre 12 a 18 horas en agitación continua, siguiendo posteriormente las instrucciones del kit. El ADN purificado puede ser analizado inmediatamente o ser conservado a 4 °C hasta su utilización.

Las muestras de tejido parafinadas se tratan con 200 µl de tampón fosfato salino/tween20 0,05%, se incuban a 65 °C durante 15 min y se centrifugan 5 min a 13 000 xg. Posteriormente se enfrían 30 min a 4 °C, se elimina el disco de parafina que se ha formado y el sobrenadante acuoso. El sedimento contiene la muestra de tejido que se procesa como una muestra de tejido fresca.

Amplificación mediante LnPcr

La PCR se realiza siguiendo el protocolo descrito por Cruz *et al.* (2002) con pequeñas modificaciones. La primera reacción de amplificación se lleva a cabo en un volumen final de 50 µl que contiene 10 ó 20 µl del ADN purificado, 5 µl al tampón 10x - MgCl₂ 20 mM - (Biotools®, España), 1 µl dNTPs 10 mM (Biotools®, España), 1 µl primer R221 (5'-GG-TTCCTTCCTGATTTACG-3') 15 pmol/µl (Sigma, España), 1 µl primer R332 (5'-GGCCGGCCGAGGA-ATAATAG-3') 15 pmol/µl (Sigma, España), 1,4 µl de Tth polimerasa 1 U/µl (Biotools®; España), completando el volumen final con agua libre de ADN. La amplificación se realiza en un termociclador AB 2720 (Applied Biosystem). Las condiciones de amplificación son: desnaturalización a 94 °C durante 5 min; seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C 30 s, hibridación a 60 °C 30 s y extensión a 72 °C 30 s; y una extensión final a 72 °C 5 min. Después la temperatura se mantiene a 4 °C.

La segunda reacción de amplificación se realiza a partir de 10 µl de una dilución 1:40 del producto de la primera amplificación (25 µl del producto amplificado en 1 ml de agua). El volumen final de esta segunda reacción de amplificación es de 25 µl; que contiene 2,5 µl del tampón 10x - MgCl₂ 20 mM - (Biotools®, España), 0,5 µl a la mezcla de dNTPs 10 mM (Biotools®, España); 0,5 µl al primer R223 (5'-TCC-CATCGCAACCTCGGTT-3') 15 pmol/µl; 0,25 µl al primer R333 (5'-AAAGCGCGGGCGTGCTG-3') 15 pmol/µl; 1 µl de la Tth polimerasa 1 U/µl (Biotools®, España), completando el volumen final con agua.

Las condiciones de amplificación son: desnaturalización a 94 °C durante 5 min; seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C 30 s, hibridación a 65 °C 30 s y extensión a 72 °C 30 s; y una extensión final a 72 °C 5 min. Después la temperatura se mantiene a 4 °C.

Los productos amplificados se analizan en un gel de agarosa al 1,5 % - GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain al 0,1x (Biotum, USA) y se visualizan con luz UV. En las muestras positivas se observa un producto amplificado de 603 pb en la primera reacción y 358 pb en la segunda reacción aunque sólo las muestras con alta carga parasitaria aparecen positivas desde la primera reacción. Este procedimiento permite la amplificación de todas las especies del género *Leishmania* por lo que en los casos autóctonos se asume que la especie detectada es *L. Infantum*. En los casos importados, la identificación de la especie de *Leishmania* requiere la realización de otras reacciones de amplificación dirigidas a otras dianas y su posterior digestión con enzimas de restricción y/o secuenciación.

Resultados

En el periodo del 1 de enero de 2009 al 31 de julio de 2014, en la Unidad de Leishmaniasis, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III, se analizaron 4.573 muestras mediante PCR y 2.978 mediante cultivo, de ellas fueron positivas 1.171 y 391, respectivamente. Las figuras 1 y 2 resumen los resultados obtenidos por año y muestra la mayor sensibilidad de la PCR como técnica de diagnóstico con respecto al aislamiento y cultivo del parásito.

En la tabla 2 se describe el porcentaje de cultivos positivos en muestras PCR positivas, observándose que la médula ósea y las biopsias cutáneas son las muestras clínicas que presentan mayor éxito en el aislamiento del parásito (35%). Solo en el 0,09% de las muestras con PCR negativa, el cultivo fue positivo (3/3.308). Del total de cultivos positivos (375) se aislaron y crioconservaron 330 aislados de *Leishmania infantum* (88%), que se mantienen en el biobanco de la Unidad para futuros estudios de caracterización, epidemiología molecular, etc.

Como hemos descrito anteriormente, la sensibilidad de la PCR es superior a la del cultivo, por ello los datos mostrados a continuación solo describen los resultados obtenidos con esta técnica.

En la tabla 3 se presenta la distribución de los diagnósticos realizados en nuestro laboratorio teniendo en cuenta el origen de los pacientes (comunidades autónomas). La diferencia entre el número de muestras y el número de pacientes analizados se debe a que en algunos pacientes se analizan diferentes tipos de muestra y/o en diferentes momentos.

Como se puede apreciar en la figura 3, el 71,2%



Figura 1. Muestras analizadas mediante Ln-PCR.

Fuente: Datos Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, CNM-ISCIII, enero de 2009 a julio 2014.



Figura 2. Muestras analizadas mediante cultivo.

Fuente: Datos Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, CNM-ISCIII, enero de 2009 a julio 2014.

(624/876) de los pacientes confirmados proceden de la CM, de ellos el 72,3% (453/624) residen en el área del brote. Además, es notable que el 71,3% (323/453) de los pacientes de este área, presentaron leishmaniasis cutánea, al contrario de lo que ocurre en el resto de la CM y España, donde la forma visceral es la forma clínica que se diagnostica de manera habitual.

En la figura 4 se muestra cómo evolucionó el número de casos diagnosticados en la Unidad de Leishmaniasis durante el periodo 2009 - julio de 2014. 2011 y 2012 fueron los años en los que se observó

el mayor número de casos de leishmaniasis, tanto cutánea como visceral.

Desde el año 2013 se observó un descenso general en el número de casos de leishmaniasis, si bien el descenso fue mucho más acusado en los casos de leishmaniasis cutánea que en la forma visceral. Menos frecuente fue la leishmaniasis mucocutánea, el número de casos confirmados representan entre el 0 y 5,6% del total.

Discusión

Como hemos descrito en la introducción, para el diagnóstico parasitológico y molecular de la leishmaniasis existen diferentes estrategias que permiten alcanzar este cometido. En la tabla 1 se puede observar como la sensibilidad de la observación microscópica y el cultivo dependen del tipo de muestra que se utiliza en la detección de *Leishmania*, esta variable tiene menor impacto en la eficiencia de la PCR.

En el presente trabajo no consideramos la observación microscópica en el estudio del brote, ya que este procedimiento no es de uso rutinario debido a su menor sensibilidad y a que requiere mucho tiempo cuando se analiza un gran número de muestras clínicas. No obstante, en determinadas situaciones es la técnica parasitológica más rápida y altamente eficiente, sobre todo si es un caso con alta carga parasitaria, además de ser la más económica. En el pasado, la elección de una de determinada prueba parasitológica dependía de la infraestructura y personal del laboratorio que ponía en marcha este cometido. Hoy en día, numerosos estudios muestran que la PCR es la técnica con mayor sensibilidad y la más rentable a la hora de analizar un número elevado de muestras. La influencia de las habilidades del personal encargado tiene poca incidencia en el rendimiento de la PCR, la reacción en si misma se realiza en un equipo específico para este procedimiento y su sensibilidad analítica permite detectar incluso la centésima parte de un solo parásito, por lo que cargas parasitarias bajas pueden ser detectadas con la misma eficiencia que cargas parasitarias elevadas. Incluso, si los parásitos están deteriorados, el rendimiento de la PCR es bueno, por lo que las muestras

Tabla 2
CORRELACIÓN ENTRE PCR Y CULTIVO

	PCR+	CULTIVO+	(%)	CEPAS AISLADAS
Sangre completa	345	94	27,2	92
Médula ósea	326	116	35,6	105
Biopsia de piel	434	153	35,3	122
Otras biopsias	39	12	30,8	11
TOTAL	1144	375	32,8	330

Fuente: Datos Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, CNM-ISCIII, enero de 2009 a julio 2014.

Tabla 3
MUESTRAS ANALIZADAS SEGÚN COMUNIDADES AUTÓNOMAS

	MUESTRAS		PACIENTES	
	TOTALES	POSITIVAS	TOTALES	POSITIVAS
ANDALUCÍA	450	147	293	83
ARAGÓN	33	9	30	9
ASTURIAS	36	2	32	1
BALEARES	15	7	13	6
CANARIAS	58	4	52	4
CAST-MANCHA	240	34	212	32
CAST-LEÓN	80	13	72	8
CATALUÑA	125	30	108	28
CEUTA	2	0	1	0
VALENCIA	314	76	261	52
EXTREMADURA	50	8	38	7
GALICIA	56	9	39	3
MADRID	2.988	812	2.208	624
MURCIA	44	5	39	4
NAVARRA	26	8	22	8
PAÍS VASCO	56	7	50	7
TOTAL	4.573	1.171	3.470	876

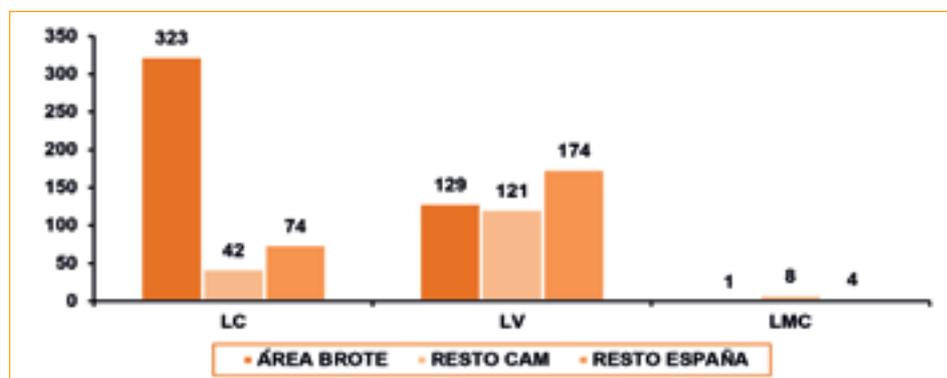


Figura 3. Casos de leishmaniasis confirmados en el CNM-ISCIII

Fuente: Datos Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, CNM-ISCIII, enero de 2009 a julio 2014.

clínicas pueden analizarse también después de varios días de su extracción.

En el pasado, el cultivo era un buen complemento para amplificar el número de parásitos presente en la muestra clínica de partida y así facilitar la visualización de *Leishmania*. Hoy en día, su utilidad está focalizada en el aislamiento del parásito para posteriores estudios de caracterización y vigilancia molecular. Para conseguir un buen resultado en el cultivo se requiere que la muestra sea procesada casi de forma inmediata, ya que la viabilidad de los parásitos disminuye durante la conservación y envío de la muestra. De hecho, en este trabajo se observa que sólo 1/3 de las muestras positivas por PCR también fueron positivas en cultivo, siendo el rendimiento incluso menor si la muestra clínica de partida es sangre. Este índice podría mejorarse si el tiempo que transcurre entre la toma de la muestra y la siembra de la misma en el medio de cultivo fuera

menor. Actualmente en nuestro laboratorio, dadas las normativas de control de calidad de envío y recepción de muestras, no es factible conseguirlo, ya que, generalmente, transcurre al menos un día entre la toma de muestra y su procesamiento para cultivo.

Desde el punto de vista del diagnóstico, es decir, para confirmar la sospecha de un caso, la eficiencia del cultivo es muy reducido, sólo un 0,09% de las muestras analizadas en este estudio presentaron cultivo positivo y PCR negativa. Esta discrepancia podría deberse a la baja carga parasitaria de la muestra y la falta de homogeneidad del número de parásitos en la muestra. No se debe olvidar que la carga parasitaria en infecciones parasitarias no es constante. *Leishmania* es un parásito intracelular, si la célula infectada se inocula en un medio de cultivo, es posible que la parte de la muestra destinada a la realización de la PCR podría no contener el material necesario para la detección del parásito mediante

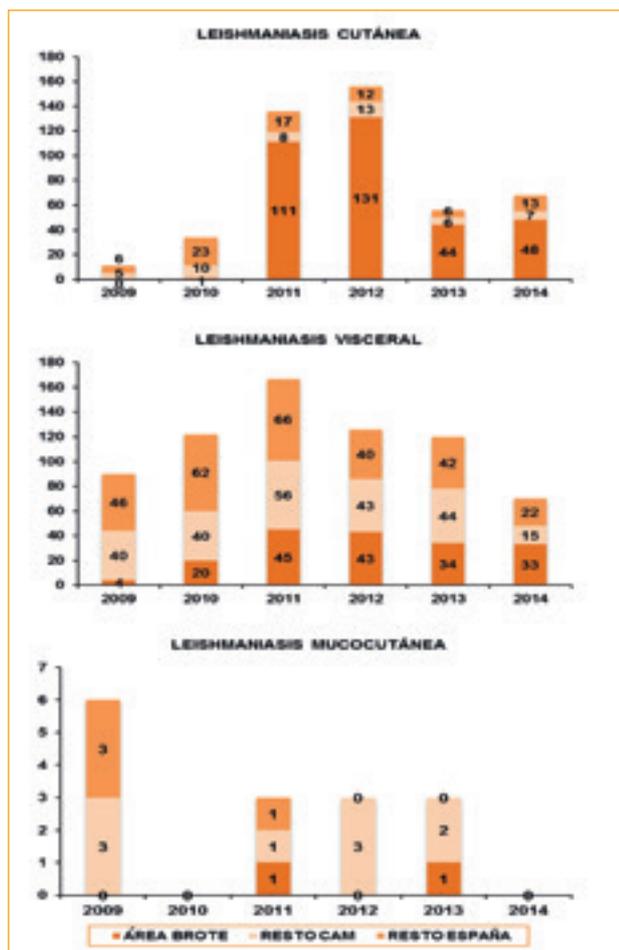


Figura 4.

Fuente: Datos Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, CNM-ISCIII, enero de 2009 a julio 2014.

esta prueba. No obstante, no existen estudios que expliquen los motivos de este tipo de resultados.

Otro inconveniente del cultivo es el elevado tiempo que requiere su procesamiento y sólo se justifica para la obtención de material suficiente para estudios de epidemiología molecular, interacción con células del hospedador, resistencia, etc.

Por el contrario, la puesta en marcha de la PCR no es una tarea complicada, en los últimos años, incluso existen pruebas comerciales y automatizadas. A diferencia de los países de renta baja, esta técnica es ampliamente utilizada en España, tanto en centros de referencia como en hospitales. Aunque no se la debe considerar como una técnica exclusiva, ya que dependiendo del momento de la evolución de la infección, la interacción del parásito y el hospedador no siempre será efectiva en el 100% de los casos. Aunque en este capítulo no se ha descrito la importancia del diagnóstico serológico, para la confirmación de los casos es aconsejable combinar los métodos parasitológicos/moleculares con los serológicos. De hecho, las muestras de sangre de pacientes con sospecha de leishmaniasis visceral que se analizan por PCR, también se analizan mediante la prueba inmu-

nocromatográfica rk39 en el plasma, tras los 10 min que conlleva realizar esta técnica, se puede confirmar la presencia de anticuerpos anti-*Leishmania*, y, por lo tanto, se puede confirmar la infección por *Leishmania* de forma temprana (resultados no mostrados). Desafortunadamente, su utilidad es limitada si el paciente tiene algún motivo de inmunodepresión o coinfección con HIV, y tampoco es útil en caso de recaídas^{16,17}. En pacientes inmunodeprimidos las pruebas serológicas de mayor utilidad son las que utilizan antígenos totales del parásito. Sólo si ambas determinaciones, moleculares y serológicas, fueran negativas y las manifestaciones clínicas hicieran sospechar de una leishmaniasis visceral, es recomendable la obtención de una muestra de médula ósea para realizar la detección del parásito.

Sin embargo, en los casos de leishmaniasis cutánea, ni la serología ni la PCR en sangre resuelve esta sospecha clínica. Para confirmar la sospecha de un caso cutáneo es necesario analizar una biopsia de piel o aspirado cutáneo, ya sea fresca o parafinada.

Para finalizar, los resultados de este trabajo permiten evaluar de forma independiente la declaración de los casos de leishmaniasis en la CM y en el área de brote. Si bien los resultados no se han analizado desde el punto de vista epidemiológico, la gráfica 4 muestra un patrón de evolución similar al descrito en los análisis de este tipo. Generalmente, se postula que existe una subdeclaración de casos debido a la no notificación de los mismos, por ello la vigilancia microbiológica supone un importante complemento para conocer la incidencia y endemismo de la leishmaniasis en un área concreta como la del brote, como en el resto de la Comunidad de Madrid o el resto de España.

Conclusiones

La observación microscópica es útil sólo si la carga parasitaria es alta y la muestra clínica es médula ósea. El cultivo tiene como principal función el aislamiento del parásito para estudios posteriores que requieran gran cantidad de parásitos y/o parásitos vivos. La PCR es la técnica que presenta mayor sensibilidad, independientemente de la muestra que se analice, aunque es recomendable apoyarla con el diagnóstico serológico para alcanzar un alto rendimiento en la confirmación de una sospecha clínica de leishmaniasis. Por otra parte, si bien en este capítulo se hace hincapié en la utilidad de estas técnicas desde el punto de vista diagnóstico, es necesario mencionar que para un mejor seguimiento del tratamiento, también se deberían utilizar los mismos procedimientos que se han empleado para el diagnóstico de la enfermedad. Así mismo, la monitorización de los resultados de laboratorio permite complementar la vigilancia de la leishmaniasis incluso en ausencia de una declaración obligatoria de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ WHO (2010) Control of the leishmaniasis. WHO Technical Report Series, 949. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March, 2010
- ² Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, den Boer M; WHO Leishmaniasis Control Team (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One*, 7(5):e35671.
- ³ Herwaldt BL. (1999). Leishmaniasis. *Lancet*, 354:1191-9.
- ⁴ Srivastava P, Dayama A, Mehrotra S, Sundar S. (2011). Diagnosis of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 105(1):1-6.
- ⁵ Lachaud L, Dereure J, Chabbert E, Reynes J, Maubousin JM, Oziol E, Dedet JP, Bastien P. (2000). Optimized PCR using patient blood samples for diagnosis and follow-up of visceral Leishmaniasis, with special reference to AIDS patients. *J Clin Microbiol*. 38(1):236-40.
- ⁶ Cruz I, Cañavate C, Rubio JM, Morales MA, Chicharro C, Laguna F, Jiménez-Mejías M, Sirera G, Videla S, Alvar J; Spanish HIV-Leishmania Study Group. (2002). A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum* infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 96 Suppl 1:S185-9.
- ⁷ Antinori S, Calattini S, Longhi E, Bestetti G, Piolini R, Magni C, Orlando G, Gramiccia M, Acquaviva V, Foschi A, Corvasce S, Colomba C, Titone L, Parravicini C, Cascio A, Corbellino M. (2007) Clinical use of polymerase chain reaction performed on peripheral blood and bone marrow samples for the diagnosis and monitoring of visceral leishmaniasis in HIV-infected and HIV-uninfected patients: a single-center, 8-year experience in Italy and review of the literature. *Clin Infect Dis*. 44(12):1602-10.
- ⁸ Pintado V, Martín-Rabadán P, Rivera ML, Moreno S, Bouza E. (2001) Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected patients. A comparative study. *Medicine (Baltimore)*. 80(1):54-73.
- ⁹ Sundar S, Rai M. (2002). Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 9(5):951-8.
- ¹⁰ Osman O.F. (1998). Visceral Leishmaniasis: the PCR and Direct Agglutination Test for Diagnosis and Management. Universiteit van Amsterdam. Tesis Doctoral
- ¹¹ Siddig M, Ghalib H, Shillington DC, Petersen EA. (1988). Visceral leishmaniasis in the Sudan: comparative parasitological methods of diagnosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 82(1):66-8.
- ¹² Belhadj S, Toumi NH, Dakhli H, Kallel K, Boussen N, Ben Chaabane T, Chaker E. (2002). Peripheral blood culture as a diagnostic modality for visceral leishmaniasis: apropos of 61 cases. *Med Trop (Mars)*, 62(2):155-7.
- ¹³ Piarroux R, Gambarelli F, Dumon H, Fontes M, Dunan S, Mary C, Toga B, Quilici M. (1994). Comparison of PCR with direct examination of bone marrow aspiration, myeloculture, and serology for diagnosis of visceral Leishmaniasis in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol*. 32(3):746-9.
- ¹⁴ Cascio A, Calattini S, Colomba C, Scalapogna C, Galazzi M, Pizzuto M, Camilli R, Gramiccia M, Titone L, Corbellino M, Antinori S. (2002). Polymerase chain reaction in the diagnosis and prognosis of Mediterranean visceral leishmaniasis in immunocompetent children. *Pediatrics*. 109(2):E27.
- ¹⁵ Salotra P, Sreenivas G, Pogue GP, Lee N, Nakhasi HL, Ramesh V, Negi NS. (2001). Development of a species-specific PCR assay for detection of *Leishmania donovani* in clinical samples from patients with kala-azar and post-kala-azar dermal leishmaniasis. *J Clin Microbiol*. 39(3):849-54.
- ¹⁶ Elmahallawy EK, Sampedro Martinez A, Rodriguez-Granger J, Hoyos-Mallecot Y, Agil A, Navarro Mari JM, Gutierrez Fernandez J. (2014). Diagnosis of leishmaniasis. *J Infect Dev Ctries*, 8(8):961-72.
- ¹⁷ Monge-Maillo B, Norman FF, Cruz I, Alvar J, López-Vélez R. Visceral leishmaniasis and HIV coinfection in the Mediterranean region. (2014). *PLoS Negl Trop Dis*. 21; 8(8):e3021.

IMPORTANCIA DE LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR EN UN SISTEMA DE VIGILANCIA DE LA LEISHMANIASIS

Mathieu Bangert^{1,2}, Ivonne Pamela Llanes-Acevedo¹, Susana Cruz¹ e Israel Cruz¹

¹ Centro Colaborador de la OMS para Leishmaniasis. Servicio de Parasitología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

² European Public Health Microbiology Training Program (EUPHEM), European Centre for Disease Control and Prevention. Estocolmo. Suecia

Resumen

La aplicación de herramientas de caracterización molecular en el contexto de un estudio epidemiológico se conoce como *Epidemiología Molecular*. En el campo de las enfermedades infecciosas, se podría considerar que la epidemiología molecular abarca, entre otros aspectos, la identificación de los agentes responsables de una enfermedad infecciosa, su origen, sus relaciones biológicas, y su ruta de transmisión, así como la identificación y caracterización de los genes implicados en la virulencia del patógeno, aquellos relevantes para el diseño de vacunas o pruebas diagnósticas y los que pueden estar implicados en la resistencia al tratamiento. En el caso de la leishmaniasis, como en el de otras enfermedades infecciosas transmitidas por vector, la definición se puede ampliar al estudio de atributos de este último como son la identificación de especies portadoras del parásito, las distintas subpoblaciones del vector y su distribución en los focos de transmisión, así como sus preferencias alimentarias. Las herramientas de biología molecular permiten también abordar de manera conjunta el estudio de poblaciones de parásito y vector, la distribución de distintos genotipos a lo largo del tiempo y el espacio y la emergencia de rasgos que puedan estar asociados a una distinta tasa de transmisión o sean responsables de un impacto diferente en las comunidades afectadas. De este modo se constituiría el núcleo de un sistema de vigilancia molecular.

Introducción

El ciclo de transmisión de la leishmaniasis es complejo y resulta de la interacción parásito-reservorio-vector, siempre supeditada a la existencia de condiciones ambientales que favorezcan el contacto entre todos los componentes del ciclo. *Leishmania* es el parásito responsable de la leishmaniasis, que es transmitido mediante la picadura de hembras de flebotomo a una población de hospedadores (reservorios) en la que el parásito pueda mantenerse, causando o no patología, hasta un siguiente evento de transmisión. El ejemplo más simple implicaría una única especie de parásito, vector y reservorio, pero esta situación puede hacerse más compleja cuando intervienen en un mismo foco distintas especies de alguno o todos los componentes del ciclo. Este último caso no es infrecuente y complica la identificación de todos los agentes involucrados en la transmisión del parásito, dificultando las medidas de control. Cabe resaltar que la mayoría de las formas de leishmaniasis son consecuencia de un ciclo de transmisión zoonótico, en el que distintas especies de mamíferos pueden jugar el papel de reservorio y donde ocasionalmente la infección es transmitida al hombre. En determinadas regiones la transmisión es antroponótica y en este caso el hombre es reservorio y víctima del parásito.

En la actualidad, la aplicación de herramientas de biología molecular apoya el estudio de los distintos ciclos de transmisión de *Leishmania*, ampliando

la información que sobre cada uno de los componentes del ciclo proporcionan otras aproximaciones (Figura 1). A continuación se detallarán las posibles aplicaciones de la biología molecular para contribuir a una mejor comprensión de la epidemiología de la leishmaniasis, considerando principalmente la leishmaniasis causada por *L. infantum* en la cuenca del Mediterráneo.

Investigación molecular en el vector

Los flebotomos son el componente principal en la transmisión de *Leishmania* y, por tanto, una pieza clave en el control de la transmisión. Las herramientas de biología molecular permiten determinar tanto las fuentes de ingesta de sangre en las hembras de flebotomo, como si éstas son portadoras de *Leishmania*; además, el estudio de determinadas regiones del genoma de estos dípteros posibilita la identificación de especies y la caracterización y determinación de distintas poblaciones del vector al nivel de infraespecie (Figura 1A).

Identificación de la fuente de ingesta de sangre

La identificación de la sangre ingerida por los flebotomos es un aspecto importante a la hora de averiguar de qué animales se alimentan preferente-

mente y proporciona información sobre su posible capacidad vectorial. Hasta que los métodos moleculares estuvieron disponibles este tipo de estudios se basaba en técnicas serológicas y aunque su contribución a la epidemiología de la leishmaniasis fue importante, presentaban una serie de limitaciones: principalmente la necesidad de producir anticuerpos específicos contra cualquier animal que pudiera ser una potencial fuente de sangre para el flebotomo y la de utilizar especímenes frescos y recién alimentados ¹.

La aplicación de métodos moleculares basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha simplificado el proceso de identificación de la sangre ingerida por vectores hematófagos y ha mejorado su sensibilidad. La mayoría de las aproximaciones descritas consisten en la amplificación específica de un fragmento de los genes *citocromo b (cytb)* o *citocromo oxidasa I (COI)* de vertebrados, genes mitocondriales con una fuerte señal filogenética, por lo que el estudio directo de su secuencia permite una identificación correcta del animal del cual ha obtenido la sangre el artrópodo ². La amplificación del producto mediante PCR y posterior secuenciación permite obtener la máxima información, mientras que otra metodología como la digestión del producto de PCR con enzimas de restricción y posterior valo-

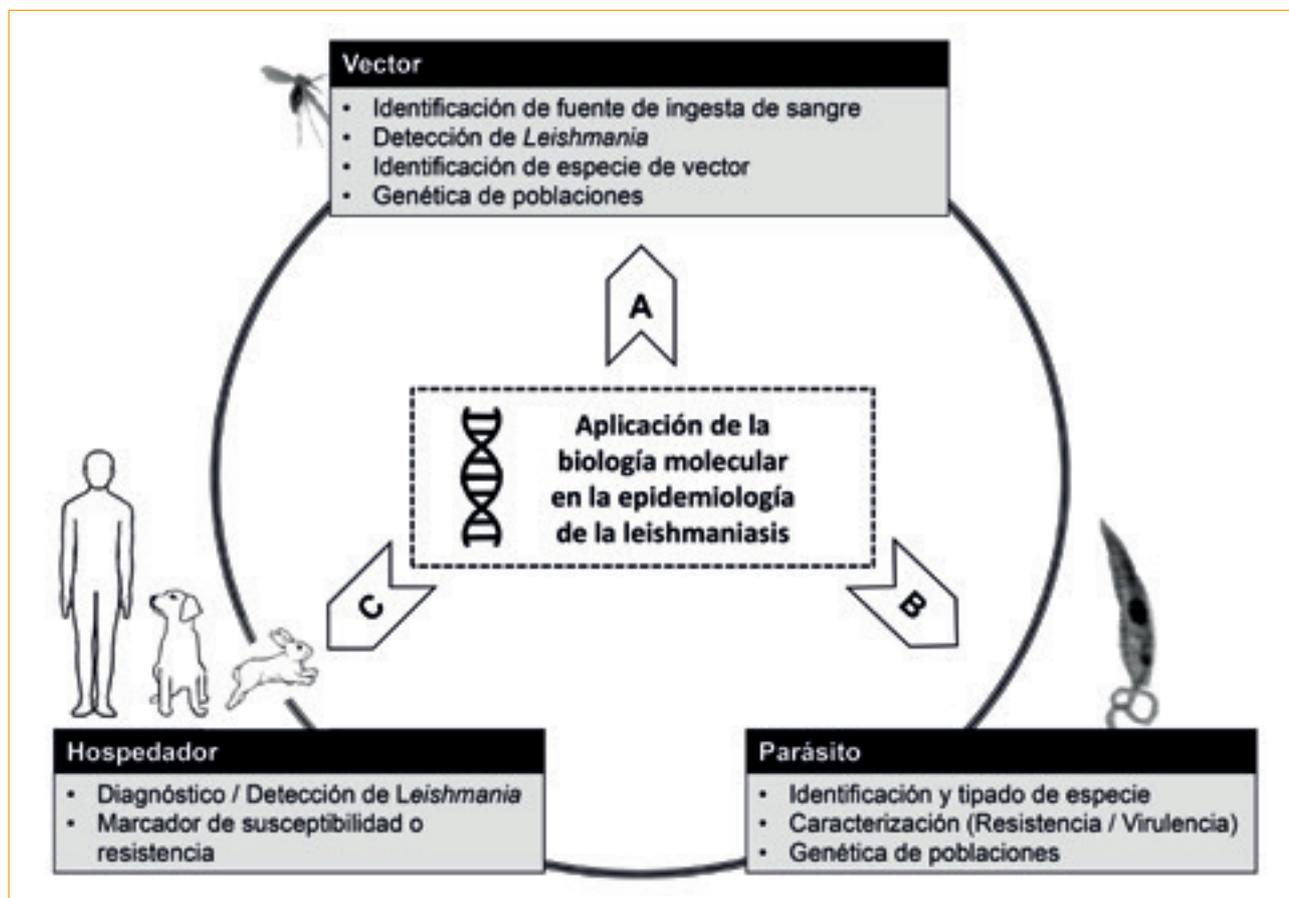


Figura 1A.

ración del polimorfismo de los fragmentos obtenidos^{3,4}, aunque ampliamente utilizada, no garantiza una identificación inequívoca, ya que este método tan solo refleja la presencia y distribución de los sitios de restricción usados, que pueden ser comunes en especies que sí se diferenciarían mediante secuenciación completa del fragmento amplificado. También hay investigadores que emplean PCRs específicas de cada especie animal a detectar^{1,5}, una limitación obvia de esta estrategia es la necesidad de conocer toda la diversidad animal presente en el área de estudio antes de proceder al diseño de estas PCRs específicas.

Diferentes estudios realizados en España, Italia y Portugal han mostrado que *Phlebotomus perniciosus*, uno de los vectores de *L. infantum* en la cuenca del Mediterráneo, se comporta de manera oportunista y no muestra claras preferencias entre las distintas especies de vertebrados disponibles a la hora de obtener sangre, más bien la fuente de donde obtiene sangre está condicionada por el hábitat en que se realicen las capturas de este flebotomo^{6,7,8,9}. Estos estudios demostraron que *P. perniciosus* puede obtener sangre de diversos animales como las gallinas, roedores, conejos, liebres, gatos y ovejas, además de los perros, principal reservorio de la leishmaniasis por *L. infantum*, y del hombre. Es importante tener en cuenta también que la mayor frecuencia de alimentación sobre una especie dada puede estar relacionada con el hecho de que esa especie sea más abundante en el entorno y no con una preferencia real por la misma. No obstante, este carácter oportunista proporciona información sobre los distintos animales que, en un contexto dado, podrían estar implicados en la transmisión de *Leishmania* y que serían por tanto aquellos en los que realizar los estudios dirigidos a la identificación de reservorios.

Detección de *Leishmania* en el vector

Las técnicas de detección de ADN de *Leishmania*, basadas en la PCR, se aplican habitualmente en muestras clínicas de origen humano y de posibles reservorios, tanto para detectar la infección por el parásito, como para apoyar el diagnóstico de la leishmaniasis. Esta aproximación es igualmente útil para detectar la presencia de *Leishmania* en flebotomos y ha sido aplicada por diversos autores en áreas endémicas de la cuenca del Mediterráneo^{9,10,11,12}.

La detección de ADN de *Leishmania* en los flebotomos, particularmente en aquellos que aún presentan sangre en su interior, no necesariamente confirma su capacidad vectorial, ya que la presencia de ADN del parásito no implica la viabilidad del mismo ni que éste pueda ser transmitido cuando el flebotomo vuelva a ingerir sangre de un nuevo hospedador. Se considera que esta aproximación es más fiable cuando se aplica en ejemplares que no muestran trazas de sangre, ya que en este caso

el ADN de *Leishmania* detectado correspondería a parásitos que han resistido el proceso de digestión de la sangre y su posterior defecación, siendo éste un prerequisite para la transmisión en una siguiente picadura¹³. En el caso de especies con capacidad vectorial confirmada, Alcover y colaboradores¹⁴, en un trabajo realizado en tres localidades de Cataluña, mostraron que el porcentaje de *P. perniciosus* y *P. ariasi* (ambos vectores de *L. infantum*) en el que el ADN de *Leishmania* era detectado por PCR, aumentaba en aquellos especímenes en los que la sangre ingerida mostraba un mayor grado de digestión.

Es importante resaltar que la confirmación definitiva de que los parásitos presentes en un flebotomo pueden llegar a ser transmitidos, viene dada por la disección del vector y observación microscópica de los parásitos en la porción anterior de su aparato digestivo. No obstante, este procedimiento es laborioso, requiere tiempo y un alto grado de especialización. Por ello, los métodos moleculares, al presentar mayor capacidad de procesamiento cuando se trabaja con un elevado número de muestras, resultan de gran ayuda siempre y cuando se ejecuten correctamente y sobre los especímenes adecuados, por ejemplo aquellos que no presentan sangre sin digerir.

Identificación de especie por métodos moleculares

Un componente esencial de cualquier programa de salud pública relacionado con la vigilancia de enfermedades transmitidas por artrópodos es la identificación correcta de las posibles especies de vector. Ante la situación actual de expansión de la leishmaniasis en Europa, la investigación sobre la biodiversidad de los flebotomos adquiere una gran importancia. La taxonomía de estas especies es por tanto crucial para comprender la biodiversidad, biología y comportamiento de los flebotomos con capacidad vectorial.

La identificación de especie se basa en la determinación de características morfológicas concretas y requiere la disección y montaje de especímenes frescos o conservados apropiadamente¹⁵. Las claves taxonómicas para flebotomos, que requieren principalmente el estudio de características de la genitalia y estructuras reproductivas internas no son fáciles de usar, salvo por entomólogos con gran experiencia. Y lamentablemente esta experiencia no abunda.

Las herramientas moleculares resultan de gran ayuda para identificar especies, y pueden aplicarse sobre partes del espécimen, en ambos sexos y en diferentes estadios de desarrollo del mismo. En este sentido, surge recientemente el concepto de *DNA barcoding* (código de barras de ADN, o código de barras genético) que es el uso de herramientas de biología molecular y bioinformática con el objetivo de identificar especies biológicas. Este método asume que la variabilidad genética entre especies es mayor que la que se observa intraespecie. Por

consiguiente, el *DNA barcoding* ideal refleja la distribución de la variabilidad intra- e inter-especie separada por una distancia conocida como *DNA barcoding gap*. Esta idea se ha expandido en el estudio de la sistemática de los metazoos con el análisis de genes mitocondriales, principalmente el gen *COI*, y en algunos casos también el gen *cytb* ^{16,17}. Actualmente los esfuerzos para el desarrollo y gestión del *DNA barcoding* están coordinados por el *Consortium for the Barcode of Life* (CBOL) ¹⁸.

No hay que olvidar que aunque esta metodología permite una asignación inequívoca de especie, requiere de la existencia de secuencias de referencia procedentes de ejemplares identificados correctamente mediante aproximaciones taxonómicas aceptadas, en nuestro caso la taxonomía morfológica clásica.

Esta metodología, basada en el gen *COI*, ha mostrado su utilidad a la hora de identificar correctamente las hembras de *P. chabaudi* y *P. riouxi* (especies estrechamente relacionadas y posibles vectores de *L. killicki*) en Argelia y Túnez. Para estas especies la identificación taxonómica basada en las características morfológicas de los machos es fácil, mientras que en las hembras entraña una gran dificultad distinguir entre ambas ¹⁹. Actualmente el trabajo de distintos autores ha generado una información muy valiosa para las actividades de *DNA barcoding*; estos trabajos han facilitado el acceso libre a un gran número de secuencias, de los genes *COI* y *cytb* obtenidas de diferentes especies de flebotomos vectores en distintas regiones endémicas de la cuenca del Mediterráneo ²⁰⁻²⁸.

Genética de poblaciones del vector

La comprensión de la epidemiología de una enfermedad transmitida por vector requiere un claro conocimiento sobre la biología básica de todos los organismos implicados. A pesar de que se reconoce el papel fundamental de los vectores en estas enfermedades, existe muy poca información disponible sobre su actividad y dinámica en condiciones naturales. Los estudios de genética de poblaciones pueden ayudar a llenar este vacío proporcionando información sobre el estatus taxonómico de las especies, los límites espaciales de sus poblaciones y la existencia de flujo genético entre ellas. La visión de algunos artrópodos vectores como meros vehículos para alcanzar un hospedador, sin ejercer efecto en el patógeno, está cambiando conforme cada vez más estudios muestran que los patógenos pueden alterar significativamente la biología del vector y se acumula evidencia sobre una fuerte base genética de la competencia vectorial ^{29,30}.

El estudio de marcadores moleculares polimórficos y la manera en que el polimorfismo se distribuye entre un conjunto predefinido de individuos (i.e. genética de poblaciones) permite comprender muchas

características ecológicas de las poblaciones estudiadas, incluyendo sus modos y estrategias de reproducción, su dispersión y propagación, así como el tamaño y estructura de las mismas. La disponibilidad actual de herramientas moleculares ha abierto el camino para el desarrollo de una "epidemiología genética integrada" para el estudio de la genética de poblaciones de enfermedades infecciosas y sus vectores, una disciplina que pretende contribuir a mejorar el conocimiento de los patrones y determinantes de la distribución espacio-temporal de las enfermedades transmitidas por vectores ³¹.

La mayoría de trabajos dirigidos a determinar la estructura de poblaciones de flebotomos vectores en la cuenca del Mediterráneo han aprovechado la información sobre la variabilidad intraespecífica de los genes utilizados en la estrategia de *DNA barcoding*. A partir de los datos de variabilidad en estas secuencias, los autores describen distintos genotipos dentro de una misma especie en distintos países endémicos, ya existe una gran información sobre *P. ariasi* (Argelia, España, Francia, Marruecos, Portugal), *P. longicuspis* (Túnez), *P. neglectus* (Italia), *P. papatasi* (Egipto, Israel, Italia, Jordania, Palestina, Siria, Turquía), *P. perfiliewi* (Italia), *P. perniciosus* (Francia, Italia, Túnez) y *P. sergenti* (España y Marruecos); y esta revela que los distintos genotipos suelen mostrar agrupación por localización geográfica, lo que indica cierto grado de diferenciación genética entre distintas poblaciones de una misma especie ^{21,22,24,25,27,28}. Esta información es la que conforma la base para poder comprender los patrones de dispersión de estas poblaciones, determinar el origen de nuevas poblaciones del vector y establecer medidas de control adecuadas.

Investigación molecular en el parásito

Los métodos moleculares, además de dirigidos a la detección de *Leishmania* en el vector o en el hospedador, también encuentran aplicación en el estudio de particularidades genéticas del parásito. El estudio de polimorfismos en determinadas regiones de su genoma es de gran ayuda en la identificación de especies de *Leishmania* y subtipado de las mismas y ha revelado características que pueden asociarse a un distinto desempeño de los métodos diagnósticos. Se pueden estudiar grupos de genes y la expresión de los mismos para obtener información sobre la virulencia o la resistencia a fármacos. Y aplicando herramientas de filogenia y genética de poblaciones podemos determinar la estructura de poblaciones de *Leishmania* y contribuir a la resolución de problemas epidemiológicos (Figura 1B).

Identificación de especie y tipado mediante métodos moleculares

Dado que las diferentes especies de *Leishmania* no necesariamente causan un cuadro clínico si-

milar, la identificación de especie es altamente relevante para conocer el pronóstico de la infección y establecer un tratamiento adecuado. Además, cuando distintas especies de *Leishmania* circulan de manera coendémica, la determinación de especies es una pieza clave para comprender los distintos ciclos de transmisión y establecer medidas de control adecuadas. Son varias las regiones del genoma de *Leishmania* que se han analizado, bien mediante secuenciación de productos de PCR o tras el estudio del polimorfismo de los fragmentos obtenidos al tratar estos productos con enzimas de restricción (RFLP). Las regiones seleccionadas por distintos autores incluyen desde los minicírculos del ADN mitocondrial hasta genes y regiones no codificantes del ADN nuclear del parásito. Durante mucho tiempo ha habido una gran falta de consenso y la variedad de aproximaciones ha sido tal que ha impedido la comparación de resultados entre diferentes laboratorios, dificultando una mejor comprensión de la epidemiología de la leishmaniasis y enlenteciendo el diseño de protocolos para una orientación de un tratamiento especie-específico. Es más, durante los últimos años ha habido un gran debate sobre la revisión del status taxonómico de alguna de las especies. Actualmente, la mayor parte de la comunidad acepta que el estudio de la secuencia de un fragmento de 1380 pares de bases del gen que codifica la proteína de choque térmico de 70 KDa (HSP70) de *Leishmania* es la mejor aproximación al diagnóstico de especie³². También está ampliamente aceptado, particularmente para las especies de *Leishmania* del hemisferio oriental, el estudio mediante secuenciación o RFLP del espaciador transcrito interno-1 (ITS1)³³.

El estudio de la variabilidad de determinados genes de *Leishmania* también ha contribuido a la comprensión del diferente comportamiento de las técnicas diagnósticas en distintas áreas endémicas. Un claro ejemplo es el estudio de la variabilidad de un gen de la familia de las kinesinas, un fragmento de este gen que incluye una secuencia repetida forma parte del test rápido rK39 (rK39-ICT). Este test se ha convertido en una alternativa de gran utilidad en el diagnóstico de la leishmaniasis visceral en el terreno, donde otras aproximaciones no están disponibles. Si bien este test es extremadamente fiable en el Subcontinente Indio, su sensibilidad en el este de África es muy inferior. Esta diferencia viene explicada por la diferencia en la secuencia entre los homólogos rK39 en las cepas de *L. donovani* del este de África y del Subcontinente Indio. Si bien el último muestra una gran similitud con el homólogo de *L. chagasi* (de donde procede el antígeno recombinante empleado en el rK39-ICT), el primero muestra menor similitud de secuencia con las consecuentes limitaciones para la unión de los anticuerpos contra este antígeno³⁴.

Estudio molecular de la virulencia y resistencia a fármacos

Como parásito intracelular, una vez en el hospedador, *Leishmania* se enfrenta a un ambiente hostil: el fagolisosoma de su célula diana, el macrófago. La patogenicidad vendrá determinada por el componente genético del parásito (a nivel de especie e infra-especie), la susceptibilidad genética del hospedador y la respuesta inmune que este arme contra el parásito. *Leishmania* presentará dos tipos de determinantes moleculares de patogenicidad: proteínas de superficie y enzimas asociadas al metabolismo implicado en la evasión de la respuesta inmune, que se encargarán de mediar en la interacción inicial del parásito con las diferentes líneas celulares implicadas en la respuesta a la infección, y de resistir el estrés metabólico al que la someterán los macrófagos³⁵. Entre estos factores se encuentran: i) la metaloproteasa principal de la superficie del parásito gp63, esencial en el inicio y mantenimiento de la infección³⁶; ii) la cisteín proteasa-b (CPB), implicada en los procesos de invasión, supervivencia y evasión³⁷; iii) la proteína de superficie acilada hidrofílica B (HASP B / K26), capaz de sobreestimular la producción de linfocitos B, desviando así la respuesta inmune celular³⁸ en favor del parásito; y iv) la proteína de superficie del amastigote A2, implicada en la supervivencia en el interior del macrófago³⁹.

Entre estos genes candidatos a factor de virulencia en *Leishmania* se ha observado un elevado grado de conservación en los genes *gp63* y *cpb*, lo que muestra una gran importancia de los mecanismos en que están implicados, admitiendo muy pocos cambios en su secuencia, mientras que no pueden asociarse polimorfismos en estos genes con distintas manifestaciones clínicas.

Sí que se ha registrado un elevado polimorfismo en el gen *haspB*, el cual parece ser también determinante en la generación de promastigotes metacíclicos (la forma infectiva de *Leishmania* transmitida por el vector); estos hallazgos forman parte del trabajo de caracterización molecular del brote de leishmaniasis de la Comunidad de Madrid, por lo que son discutidos en el capítulo *Caracterización molecular de los aislados de Leishmania infantum implicados en el brote de leishmaniasis en el suroeste de la Comunidad de Madrid*.

La proteína A2 del complejo *L. donovani* (al que pertenece *L. infantum*) se expresa predominantemente en amastigotes (la forma intracelular del parásito) y por tanto podría jugar un papel clave en la supervivencia de *Leishmania* en el interior del hospedador. Esta proteína se expresa en parásitos del complejo *L. donovani* cuando son sometidos a situaciones de estrés, mientras que en *L. major* (responsable de leishmaniasis cutánea) se trata de un pseudo-gen que no se expresa. Se ha comprobado que al transfectar a *L. major* con A2 aumenta su via-

bilidad tras someterla a una situación de estrés como el choque térmico. Luego se cree que A2 debe jugar un papel importante a la hora de proteger a las especies del complejo *L. donovani* del estrés asociado a la infección de los órganos en la leishmaniasis visceral, incluyendo la fiebre, signo típico en esta forma de la leishmaniasis ⁴⁰. El papel de A2 como gen implicado en la virulencia de *Leishmania* ha sido confirmado recientemente en un estudio llevado a cabo con una colección de cepas de *L. donovani* aisladas en Sri Lanka, donde esta especie es responsable tanto de leishmaniasis cutánea como visceral. Este estudio determinó que el número de copias del gen A2 era menor en cepas asociadas con leishmaniasis cutánea; indicando que, entre otros factores, la capacidad de *Leishmania* de causar leishmaniasis visceral podría estar determinada por la amplificación de este gen ⁴¹.

Durante mucho tiempo los antimoniales pentavalentes (Sb^V) han sido el tratamiento de primera línea contra la leishmaniasis, sin embargo, en el Subcontinente Indio (región que acumula la mayoría de casos de leishmaniasis visceral) se ha venido registrando en los últimos años una tasa cada vez mayor de fallo terapéutico, relacionada con la resistencia de *Leishmania* a los Sb^V. Esto ha animado la búsqueda, a menudo infructuosa, de marcadores moleculares que permitan determinar el perfil de resistencia al fármaco en los parásitos. En esta línea se han determinado una serie de polimorfismos de único nucleótido (SNPs) que pudieran estar relacionados con la falta de respuesta a los Sb^V, si bien esta aproximación requiere de una valoración en un tamaño de muestra más amplio ⁴². La comprensión de los mecanismos biológicos asociados a la resistencia a fármacos es importante de cara a evaluar su impacto en la eficacia de distintas opciones terapéuticas, así como en los diversos programas de control. Actualmente se considera que el mecanismo que presenta *L. donovani* de resistencia a los Sb^V está asociado a una mayor capacidad de adaptación de las cepas que han sido sometidas a presión con estos fármacos, debido a que poseen la capacidad de activar mecanismos efectores en la célula que hospeda al parásito, ejerciendo así una presión que favorece la selección de cepas con mayor capacidad de adaptación. Esto explicaría por qué las cepas de *L. donovani* resistentes a los Sb^V son todavía muy prevalentes en Bihar (India) a pesar de que se haya reducido la presión con este fármaco desde que se comenzó a emplear la miltefosina ⁴³. Los mecanismos genéticos que subyacen a esta mayor capacidad de adaptación, permitiendo que existan cepas más infecciosas, son actualmente motivo de estudio, ya que estas cepas pueden suponer un impedimento adicional al buen funcionamiento de los programas de control. Es preocupante, a su vez, el hecho de que la mayor capacidad de adaptación de las cepas resistentes

a los Sb^V también se asocia a una mayor resistencia a la miltefosina ⁴⁴.

En el caso de *L. infantum* se ha comprobado que en cepas aisladas en la región occidental de Mediterráneo, y resistentes a los Sb^V, existe una amplificación o sobreexpresión de ciertos genes (hasta la fecha se han identificado 10 genes candidatos) ⁴⁵. Debido a la capacidad de *Leishmania* de desarrollar resistencia a fármacos, se ha discutido en diversos foros que en la cuenca del Mediterráneo no se deberían tratar los casos de leishmaniasis humana y leishmaniasis canina con el mismo fármaco; si a esto añadimos que recientemente se ha comprobado que cepas de *L. infantum* resistentes a los Sb^V pueden ser transmitidas por el *P. perniciosus* y que el fenotipo de resistencia no se pierde tras el paso por el vector, el debate está servido ⁴⁶.

Genética de poblaciones del parásito

Las herramientas moleculares se emplean cada vez más en estudios epidemiológicos relacionados con la leishmaniasis. Para ello se han desarrollado un gran número de marcadores moleculares que permiten resolver las diferencias genéticas entre especímenes de *Leishmania*, tanto a nivel de especie, como de infraespecie. Sin embargo, las estrategias de tipado y su posterior análisis deben mejorarse para obtener una buena sinergia con los estudios epidemiológicos. Se deben crear protocolos estandarizados, así como bases de datos accesibles y sostenibles que permitan integrar los datos obtenidos por diferentes investigadores; esto permitiría un análisis global y contribuiría a evitar sesgos en los estudios que incluyen un pequeño tamaño de muestra.

La electroforesis de enzimas multilocus (MLEE) ha sido la herramienta de referencia para la identificación de especies y tipado de *Leishmania* en las últimas décadas, sin embargo, presenta una serie de limitaciones, lo cual ha provocado la búsqueda de alternativas basadas en herramientas moleculares. La metodología de MLEE en Europa y Sudamérica (regiones donde *L. infantum* es endémica) es diferente, ya que se emplean distintos paneles de enzimas, impidiendo la comparación entre laboratorios de estas dos regiones. Además, los estudios moleculares han mostrado que las diferencias en la movilidad electroforética reveladas mediante MLEE pueden no ser consecuencia de una diversidad nucleotídica. A esto se une el hecho de que hay fenotipos identificados mediante MLEE (zimodemas) que son indistinguibles, pero pueden ser consecuencia de distintos genotipos. Otra limitación del MLEE es su bajo poder de resolución, un claro ejemplo es que la mayor parte de las cepas de *L. infantum* causantes de leishmaniasis visceral en la cuenca del Mediterráneo y Sudamérica pertenecen al mismo zimodema, MON-1 ⁴⁷.

Las herramientas utilizadas en el tipado de *Leishmania* varían desde la amplificación de una región de su genoma y posterior análisis del RFLP al estudio de la secuencia del producto amplificado, incluyendo regiones codificantes o no codificantes. Cada una de estas aproximaciones tiene un poder de resolución distinto, así como una serie de ventajas y desventajas. En general, el tipo de marcador a elegir depende de la pregunta a responder en el contexto de una investigación epidemiológica: determinación de especie para identificar casos importados, detección de combinaciones parásito-vector-hospedador en áreas donde coexistan distintas especies de cada uno de los componentes del ciclo de transmisión, diferenciación entre reinfecciones y recidivas, identificación de cepas asociadas a brotes, etc.

El análisis de los datos generados por la mayoría de herramientas moleculares con aplicación en epidemiología se lleva a cabo mediante dos aproximaciones principales: genética de poblaciones o filogenia. El análisis de genética de poblaciones permite obtener una "fotografía instantánea" de la estructura actual de la variabilidad genética dentro de una misma población y entre poblaciones distintas, mientras que el análisis filogenético proporciona información sobre la 'historia' de las poblaciones.

Las aproximaciones al estudio de genética de poblaciones y filogenia dependen del empleo de marcadores neutrales que no se vean afectados por los mecanismos de selección natural. Si bien es cierto que en ocasiones el uso de marcadores no-neutrales resultará de utilidad para identificar algunas características de las cepas de *Leishmania* a estudio, como factores de virulencia o atributos relacionados con una mayor capacidad de transmisión. Para los estudios de genética de poblaciones es preferible emplear marcadores codominantes que permitan detectar las 3 posibles combinaciones alélicas en un organismo diploide (como en general se comporta *Leishmania*). También es importante que estos marcadores permanezcan estables durante el cultivo *in vitro*. Asimismo, los resultados deben ser reproducibles, comparables entre distintos laboratorios y almacenables en bases de datos (preferiblemente de acceso libre).

En esta línea, las aproximaciones más empleadas y con mayor proyección de futuro son las aplicaciones de *MultiLocus Sequence Typing*, o *MultiLocus Sequence Analysis* (MLST o MLSA), y los de *MultiLocus Microsatellite Typing* (MLMT). Ambos han permitido identificar estructura de poblaciones geográfica y jerárquica en el complejo de *L. donovani*; información necesaria para comprender en el futuro los patrones de dispersión de las distintas poblaciones del parásito y determinar el origen de las poblaciones implicadas en un brote.

El MLST consiste en el análisis de la secuencia de ADN de distintas dianas del genoma del pará-

sito (generalmente regiones codificantes), siendo capaz de determinar SNPs codominantes. A cada tipo de secuencia identificado en las distintas dianas se le asigna un haplotipo, y la combinación de los haplotipos conforma la secuencia tipo o genotipo. La gran ventaja de esta metodología es que los datos de secuencias de ADN son muy reproducibles y fáciles de comparar entre laboratorios y, por tanto, adecuados para ser compartidos en bases de datos públicas. Las secuencias microsatélites, también llamadas repeticiones de secuencia simple o repeticiones cortas en tándem, son motivos repetidos de uno a seis nucleótidos que se encuentran en los genomas de procariontes y eucariontes, tanto en regiones codificantes como no-codificantes. El análisis del polimorfismo de la longitud de las secuencias que contienen microsatélites es la base del MLMT. Estas secuencias presentan una tasa de mutación entre cinco y seis órdenes de magnitud mayor que el grueso del DNA, lo que las hace extremadamente útiles en el estudio de la variabilidad genética entre organismos de una misma especie. Una desventaja de este método es que es necesario seleccionar un conjunto de marcadores específico de cada especie, además de que la comparación de resultados entre laboratorios no siempre es satisfactoria^{47,48}.

La aplicación de estos y otros moleculares en el estudio de la epidemiología de la leishmaniasis en España y Europa se discutirá en el capítulo *Caracterización molecular de los aislados de Leishmania infantum implicados en el brote de leishmaniasis en el suroeste de la Comunidad de Madrid*.

Investigación molecular en el hospedador

El empleo de herramientas moleculares en muestras biológicas del hospedador tiene dos aplicaciones principales. La primera es la detección del parásito, ya sea en casos sintomáticos para contribuir al diagnóstico de la leishmaniasis, como en casos asintomáticos donde la detección del parásito mediante PCR forma parte del arsenal empleado en encuestas epidemiológicas dirigidas a valorar la incidencia y prevalencia de la infección por *Leishmania* en una comunidad. La segunda aplicación va dirigida a determinar atributos genéticos del hospedador que puedan estar relacionados con una mayor susceptibilidad o resistencia a la infección por *Leishmania* y posterior desarrollo de enfermedad. (Figura 1C).

DetECCIÓN DE *Leishmania* EN MUESTRAS BIOLÓGICAS

Si bien la confirmación definitiva de la infección por *Leishmania* ha recaído tradicionalmente en la demostración visual del parásito mediante observación microscópica o tras aislamiento en cultivo, los métodos basados en la PCR han superado algunos de los inconvenientes y desventajas de los métodos clásicos. Particularmente, mejoran la sen-

sibilidad del diagnóstico en los estados avanzados de la leishmaniasis cutánea, y permiten el uso de procedimientos menos invasivos (análisis de sangre periférica en lugar de aspirado de médula ósea o bazo) para diagnosticar la leishmaniasis visceral. Actualmente también se usan distintas aproximaciones basadas en la PCR para identificar y tipar las especies de *Leishmania*, así como para determinar la carga parasitaria, proporcionando una ayuda muy valiosa en estudios epidemiológicos, monitorización del tratamiento y ensayos de eficacia de nuevos fármacos. Aún más, debido a que el diagnóstico basado en PCR está cada vez más extendido, diferentes grupos de investigación están realizando un gran esfuerzo para poder implementar esta metodología sobre el terreno mediante el desarrollo de formatos más simplificados como *PCR-oligochromatography* (PCR-OCT), *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP-PCR), o *Nucleic Acid Sequence-Based Amplification* (NASBA-PCR) ⁴⁹.

En nuestro entorno el perro es considerado el principal reservorio de *L. infantum*, y a su vez también es víctima de la enfermedad. El uso de herramientas adecuadas para el diagnóstico de la leishmaniasis canina es también crítico, y en términos generales las aproximaciones utilizadas son las mismas que para el diagnóstico de la leishmaniasis humana. Debido a que el rango de manifestaciones clínicas de la leishmaniasis canina es muy variado, y a que en área endémica pueden existir animales que presentan anticuerpos anti-*Leishmania* sin estar sufriendo leishmaniasis y viceversa, el diagnóstico de la leishmaniasis canina puede constituir un verdadero desafío. Por ello, el uso de la PCR en la detección de *Leishmania* y a la hora de estimar la carga parasitaria ha adquirido una gran importancia para el clínico veterinario, constituyéndose en una herramienta valiosa tanto a la hora de ayudar a definir casos difíciles como a la de monitorizar el tratamiento en este animal ⁵⁰.

En las regiones en que la leishmaniasis es endémica, el número de individuos con infección asintomática supera con creces al número de casos activos de la enfermedad. En la mayoría de los casos, los estudios dirigidos a determinar la tasa de infección asintomática en un área endémica se basan en métodos indirectos como la detección de anticuerpos mediante diversas técnicas o la evaluación de una respuesta de hipersensibilidad retardada a antígeno de *Leishmania*, generalmente, mediante el test de la leishmanina, o test de Montenegro. Estos son métodos que si bien confirman una exposición al parásito no son concluyentes en cuanto a definir una infección (asintomática) real; la confirmación definitiva vendría tras la observación microscópica o crecimiento tras cultivo del parásito a partir de muestras biológicas de los individuos asintomáticos. Esta última opción no es viable en estos casos, ya que el mejor rendimiento de la microscopía y el cultivo

se obtiene al procesar muestras obtenidas mediante procedimientos invasivos (aspirado de médula ósea o bazo), una aproximación no justificable desde el punto de vista ético en esta situación ⁵¹. Afortunadamente, la elevada sensibilidad de la PCR para detectar *Leishmania* en muestras de sangre periférica ha permitido su uso en encuestas epidemiológicas dirigidas a detectar la infección asintomática. Y si bien existe cierta variabilidad entre los distintos estudios llevados a cabo en la cuenca del Mediterráneo, en términos generales la PCR ha sido capaz de detectar una mayor proporción de casos de infección asintomática que la serología o el test de Montenegro ⁵². Además, el hecho de que estudios recientes hayan demostrado que los ácidos nucleicos de *Leishmania* detectados mediante PCR provengan de parásitos vivos y que estos sean degradados rápidamente tras la muerte del parásito, confirma la PCR como un verdadero método directo de detección de la presencia de *Leishmania* ⁵³.

En el caso del perro, la prevalencia de infección asintomática en áreas endémicas también supera el número de casos clínicos de leishmaniasis. El uso de la PCR en encuestas epidemiológicas resulta de gran utilidad y ha mostrado que, en área endémica, la mayoría de los animales estarían expuestos a *Leishmania* infectándose sin mostrar ni signos clínicos de la enfermedad ni evidencia serológica de la exposición. Como ejemplo de esta situación un estudio llevado a cabo en 100 perros de la isla de Mallorca mostró que si bien sólo el 13% de ellos tenían una leishmaniasis activa, el 26% eran seropositivos y hasta un 63% fueron PCR positivos ⁵⁴.

La amplia aceptación que ha tenido la PCR, como consecuencia de su elevada sensibilidad y alta capacidad de procesamiento, ha permitido también abordar estudios a gran escala para determinar el papel que los animales silvestres pueden jugar en la transmisión de la leishmaniasis. Si bien en la cuenca del Mediterráneo el perro es considerado el principal reservorio de la leishmaniasis, la falta de éxito de las medidas de control llevadas a cabo hasta la fecha hace sospechar de la existencia de ciclos alternativos de transmisión de *Leishmania* en los que los animales silvestres estén cumpliendo el papel de reservorios. Esta idea se ha visto reforzada gracias a recientes encuestas epidemiológicas en las que la PCR ha podido determinar la presencia de ADN de *Leishmania* en tejidos de distintas especies de carnívoros, lagomorfos, y roedores ⁵⁵. En el contexto del reciente brote de leishmaniasis en la Comunidad de Madrid, es importante destacar que diferentes estudios llevados a cabo en la región han mostrado, mediante el uso de la PCR, prevalencias de infección del 12% en conejos y del 30% en liebres ^{56,57}. Además, la capacidad de estos últimos para transmitir *L. infantum* a *P. perniciosus* ha quedado confirmada mediante estudios de Xenodiagnóstico ^{58,59}.

Bases genéticas de la susceptibilidad o resistencia a *Leishmania*

Se considera que entre el 80 y el 90% de las infecciones por *Leishmania* cursan de manera subclínica o asintomática, generalmente, asociadas a una fuerte inmunidad mediada por células. Esto hace sospechar que existen factores genéticos que pueden condicionar que en dos personas con el mismo grado de exposición al parásito, el resultado de la infección sea diferente. Las implicaciones que tendría el revelar la clave de la susceptibilidad genética a la leishmaniasis serían muy prometedoras para el desarrollo y ensayo de vacunas, y nuevas terapias. Recientes estudios sobre la asociación de genes candidatos y asociación amplia de genomas realizados en familias de áreas endémicas en Brasil, India y Sudán han identificado una serie de genes y regiones del genoma relacionados con la propensión a desarrollar una respuesta inmune de tipo celular 1 o 2, la primera, generalmente, asociada a resistencia y marcada por la presencia de una respuesta de hipersensibilidad retardada contra el antígeno de *Leishmania*, y la segunda a susceptibilidad. Sin embargo, todos los estudios de asociación alélica realizados hasta la fecha han identificado genes o conjuntos de genes con un efecto menor. Afortunadamente, la creciente generación de grandes bancos de DNA en Brasil e India está haciendo posible la realización de estudios más ambiciosos de asociación amplia de genomas, que en un futuro próximo permitirán identificar los genes y mecanismos relacionados con la susceptibilidad a la leishmaniasis ⁶⁰.

Entre los distintos genes candidatos estudiados se encuentre el *SLC11A1*, un gen clave en la inmunidad innata y participante en la promoción de la respuesta inmune adaptativa, principalmente en relación a patógenos intracelulares. Distintos estudios han mostrado la asociación entre determinados polimorfismos en este gen y una mayor susceptibilidad a *Mycobacterium tuberculosis*, *Leishmania* y VIH ^{60,61}. Resulta interesante que el Podenco Ibicenco (raza que se ha descrito como resistente a la leishmaniasis) presenta una serie de polimorfismos específicos en este gen asociados a una fuerte respuesta inmune contra *Leishmania* mediada por células, lo que refuerza la idea de que este gen podría ser un buen candidato como marcador de resistencia o susceptibilidad a la leishmaniasis ^{62,63}.

Los estudios sobre el polimorfismo del gen *SLC11A1* y de otros que se identifiquen en el futuro, tendrán una gran repercusión en los ensayos de vacunas contra la leishmaniasis. Un aspecto importante es el poder identificar *a priori* individuos con una mayor o menor propensión genética a la leishmaniasis, ya que esto permitirá establecer una clasifi-

cación sin sesgos en los distintos grupos de participantes en estos ensayos.

Hacia un sistema integrado de vigilancia molecular

El empleo de técnicas de biología molecular, y particularmente aquellas que apoyan los estudios de genética de poblaciones, tiende ya a formar parte de los sistemas de vigilancia de agentes infecciosos. De hecho, el *European Surveillance System (TESSy) Molecular Surveillance Service (MSS)* del ECDC fue introducido en el año 2012, inicialmente incorporando datos de agentes infecciosos bacterianos, y sin contemplar por ahora ninguna de las enfermedades infecciosas transmitidas por vector ⁶⁴. La creciente preocupación por la propagación de la leishmaniasis en Europa, exige del desarrollo de un sistema de vigilancia molecular integrado que permita el estudio y seguimiento de las poblaciones de *L. infantum* y sus vectores flebotomos, una aplicación racional de las herramientas de biología molecular permitiría determinar la estructura de poblaciones de parásito y vector y los rangos de distribución y migración de los mismos, así como identificar las poblaciones implicadas en nuevos brotes y entender su origen.

Siendo una enfermedad transmitida por vector, es importante que un sistema de vigilancia molecular de la leishmaniasis aborde desde un punto de vista integrado el estudio del binomio parásito-vector, y que, además, la información generada se pueda compartir de manera fácil y prácticamente en tiempo real, resultando así de utilidad para la comunidad científica y los distintos actores del ámbito de la salud pública que trabajan para combatir esta enfermedad. En este sentido se ocupa el proyecto EU-Brazil Cloud Infrastructure Connecting Federated Resources for Scientific Advancement (EuBrazilCC, European Commission, FP7-ICT-2013-EU-Brazil) ⁶⁵, en el que investigadores del Instituto de Salud Carlos III y de la Fundación Instituto Oswaldo Cruz participan en el desarrollo de un Laboratorio Virtual de Leishmaniasis (LVL) que sirva de plataforma a un sistema de vigilancia molecular de los parásitos y vectores implicados en esta enfermedad ⁶⁶. El LVL permitirá a trabajadores en salud pública e investigadores el acceso y depósito de información relevante sobre los parásitos y vectores de la leishmaniasis, integrará datos de diferentes fuentes, proveerá de aplicaciones para asociar los datos de distintas colecciones con datos de tipado molecular (como *DNA barcoding* o *MLSA*) y permitirá explorar estos usando herramientas de información geográfica para poder generar un atlas del binomio parásito-vector, y así contribuir a la vigilancia de esta enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Abbasi I, Cunio R, Warburg A. Identification of blood meals imbibed by phlebotomine sand flies using cytochrome b PCR and reverse line blotting. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009;9:79-86.
- ² Alcaide M, Rico C, Ruiz S, Soriguer R, Muñoz J, Figuerola J. Disentangling vector-borne transmission networks: a universal DNA barcoding method to identify vertebrate hosts from arthropod bloodmeals. *PLoS One.* 2009;4:e7092.
- ³ Oshaghi MA, Chavshin AR, Vatandoost H. Analysis of mosquito bloodmeals using RFLP markers. *Exp. Parasitol.* 2006;114:259-64.
- ⁴ Steuber S, Abdel-Rady A, Clausen PH. PCR-RFLP analysis: a promising technique for host species identification of blood meals from tsetse flies (Diptera: Glossinidae). *Parasitol. Res.* 2005;97:247-54.
- ⁵ Allan BF, Goessling LS, Storch GA, Thach RE. Blood meal analysis to identify reservoir hosts for *Amblyomma americanum* ticks. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;16:433-40.
- ⁶ Jiménez M, González E, Iriso A, Marco E, Alegret A, Fúster F, Molina R. Detection of *Leishmania infantum* and identification of blood meals in *Phlebotomus perniciosus* from a focus of human leishmaniasis in Madrid, Spain. *Parasitol. Res.* 2013;112:2453-9.
- ⁷ Rossi E, Bongiorno G, Ciolli E, Di Muccio T, Scalone A, Gramiccia M, Gradoni L, Maroli M. Seasonal phenology, host-blood feeding preferences and natural *Leishmania* infection of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera, Psychodidae) in a high-endemic focus of canine leishmaniasis in Rome province, Italy. *Acta Trop.* 2008;105:158-65.
- ⁸ Bongiorno G, Habluetzel A, Khoury C, Maroli M. Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. *Acta Trop.* 2003;88:109-16.
- ⁹ Maia C, Dionísio L, Afonso MO, Neto L, Cristóvão JM, Campino L. *Leishmania* infection and host-blood feeding preferences of phlebotomine sandflies and canine leishmaniasis in an endemic European area, the Algarve Region in Portugal. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2013;108:481-7.
- ¹⁰ Es-Sette N, Ajaoud M, Laamrani-Idrissi A, Mellouki F, Lemrani M. Molecular detection and identification of *Leishmania* infection in naturally infected sand flies in a focus of cutaneous leishmaniasis in northern Morocco. *Parasit. Vectors.* 2014;7:305.
- ¹¹ Jiménez M, González E, Iriso A, Marco E, Alegret A, Fúster F, Molina R. Detection of *Leishmania infantum* and identification of blood meals in *Phlebotomus perniciosus* from a focus of human leishmaniasis in Madrid, Spain. *Parasitol. Res.* 2013;112:2453-9.
- ¹² Rossi E, Bongiorno G, Ciolli E, Di Muccio T, Scalone A, Gramiccia M, Gradoni L, Maroli M. Seasonal phenology, host-blood feeding preferences and natural *Leishmania* infection of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera, Psychodidae) in a high-endemic focus of canine leishmaniasis in Rome province, Italy. *Acta Trop.* 2008;105:158-65.
- ¹³ Sadlova J, Dvorak V, Seblova V, Warburg A, Votpyka J, Volf P. *Sergentomyia schwetzi* is not a competent vector for *Leishmania donovani* and other *Leishmania* species pathogenic to humans. *Parasit. Vectors.* 2013;6:186.
- ¹⁴ Alcover MM, Gramiccia M, Di Muccio T, Ballart C, Cas-tillejo S, Picado A, Portús M, Gállego M. Application of molecular techniques in the study of natural infection of *Leishmania infantum* vectors and utility of sandfly blood meal digestion for epidemiological surveys of leishmaniasis. *Parasitol. Res.* 2012;111:515-23.
- ¹⁵ Lewis DJ. Phlebotomid sand flies (Diptera: Psychodidae) of the oriental region. *Bulletin of World Health Organization.* 1978;37:1-343.
- ¹⁶ Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Biol. Sci.* 2003;270:313-21.
- ¹⁷ Casiraghi M, Labra M, Ferri E, Galimberti A, De Mattia F. DNA barcoding: a six-question tour to improve users' awareness about the method. *Brief. Bioinform.* 2010;11:440-53.
- ¹⁸ CBoL; <http://barcoding.si.edu/>
- ¹⁹ Boudabous R, Bounamous A, Jouet D, Depaquit J, Augot D, Ferté H, Berchi S, Couloux A, Veuille M, Babba H. Mitochondrial DNA Differentiation Between Two Closely Related Species, *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) *chabaudi* and *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) *riouxi* (Diptera: Psychodidae), Based on Direct Sequencing and Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 2009;102:347-353.
- ²⁰ Essegir S, Ready PD, Killick-Kendrick R, Ben-Ismaïl R. Mitochondrial haplotypes and phylogeography of *Phlebotomus* vectors of *Leishmania major*. *Insect. Mol. Biol.* 1997;6:211-25.
- ²¹ Hamarsheh O, Presber W, Abdeen Z, Sawalha S, Al-Lahem A, Schönián G. Genetic structure of Mediterranean populations of the sandfly *Phlebotomus papatasi* by mitochondrial cytochrome b haplotype analysis. *Med. Vet. Entomol.* 2007;21:270-7.
- ²² Barón S, Martín-Sánchez J, Gállego M, Morales-Yuste M, Boussaa S, Morillas-Márquez F. Intraspecific variability (rDNA ITS and mtDNA Cyt b) of *Phlebotomus sergenti* in Spain and Morocco. *Acta Trop.* 2008;107:259-67.
- ²³ Dantas-Torres F, Latrofa MS, Otranto D. Occurrence and genetic variability of *Phlebotomus papatasi* in an urban area of southern Italy. *Parasit. Vectors.* 2010;3:77.
- ²⁴ Franco FA, Morillas-Márquez F, Barón SD, Morales-Yuste M, Gálvez R, Díaz V, Pesson B, Alves-Pires C, Depaquit J, Molina R, Afonso MO, Gállego M, Guernaoui S, Bounamous A, Martín-Sánchez J. Genetic structure of *Phlebotomus* (*Larroussius*) *ariasi* populations, the vector of *Leishmania infantum* in the western Mediterranean: epidemiological implications. *Int J Parasitol.* 2010;40:1335-46.
- ²⁵ Latrofa MS, Dantas-Torres F, Weigl S, Tarallo VD, Parisi A, Traversa D, Otranto D. Multilocus molecular and phylogenetic analysis of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from southern Italy. *Acta Trop.* 2011;119:91-8.
- ²⁶ Mahamdallie SS, Pesson B, Ready PD. Multiple genetic divergences and population expansions of a Mediterranean sandfly, *Phlebotomus ariasi*, in Europe during the Pleistocene glacial cycles. *Heredity (Edinb).* 2011;106:714-26.
- ²⁷ Boudabous R, Jaouadi K, Bounamous A, Babba H. Morphological and molecular investigations of population structure of *Phlebotomus perniciosus* and *Phlebotomus*

- longicuspis (Diptera: Psychodidae) in Tunisia. *J. Med. Entomol.* 2012;49:787-93.
- ²⁸ Peyrefitte CN, Grandadam M, Bessaud M, Andry PE, Fouque F, Caro V, Diancourt L, Schuffenecker I, Pagès F, Tolou H, Zeller H, Depaquit J. Diversity of *Phlebotomus perniciosus* in Provence, southeastern France: detection of two putative new phlebovirus sequences. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013;13:630-6.
- ²⁹ Gooding RH. Genetic variation in arthropod vectors of disease-causing organisms: obstacles and opportunities. *Clin. Microbiol. Rev.* 1996;9:301-20.
- ³⁰ McCoy KD. The population genetic structure of vectors and our understanding of disease epidemiology. *Parasite.* 2008;15:444-8.
- ³¹ Tibayrenc M. Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: the need for an integrated approach. *Int. J. Parasitol.* 1998;28:85-104.
- ³² Fraga J, Montalvo AM, De Doncker S, Dujardin JC, Van der Auwera G. Phylogeny of *Leishmania* species based on the heat-shock protein 70 gene. *Infect. Genet. Evol.* 2010;10:238-45.
- ³³ Schönian G, Nasereddin A, Dinse N, Schweynoch C, Schallig HD, Presber W, Jaffe CL. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2003;47:349-58.
- ³⁴ Bhattacharyya T, Boelaert M, Miles MA. Comparison of visceral leishmaniasis diagnostic antigens in African and Asian *Leishmania donovani* reveals extensive diversity and region-specific polymorphisms. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013;7:e2057.
- ³⁵ Rivas L, Moreno J, Cañavate C, Alvar J. Virulence and disease in leishmaniasis: what is relevant for the patient? *Trends Parasitol.* 2004;20:297-301.
- ³⁶ Olivier M, Hassani K. Protease inhibitors as prophylaxis against leishmaniasis: new hope from the major surface protease gp63. *Future Med. Chem.* 2010;2:539-42.
- ³⁷ Hide M, Bras-Gonçalves R, Bañuls AL. Specific cpb copies within the *Leishmania donovani* complex: evolutionary interpretations and potential clinical implications in humans. *Parasitology.* 2007;134:379-89.
- ³⁸ Haralambous C, Antoniou M, Pralong F, Dedet JP, Soteriadou K. Development of a molecular assay specific for the *Leishmania donovani* complex that discriminates *L. donovani/Leishmania infantum* zymodemes: a useful tool for typing MON-1. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2008;60:33-42.
- ³⁹ Oliveira TM, de Vasconcelos EJ, Nakaghi AC, Defina TP, Jusi MM, Baldani CD, Cruz AK, Machado RZ. A novel A2 allele found in *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2011;20:42-8.
- ⁴⁰ McCall LI, Matlashewski G. Localization and induction of the A2 virulence factor in *Leishmania*: evidence that A2 is a stress response protein. *Mol. Microbiol.* 2010;77:518-30.
- ⁴¹ Zhang WW, Ramasamy G, McCall LI, Haydock A, Ranasinghe S, Abeygunasekara P, Sirimanna G, Wickremasinghe R, Myler P, Matlashewski G. Genetic Analysis of *Leishmania donovani* Tropism Using a Naturally Attenuated Cutaneous Strain. *PLoS Pathog.* 2014;10:e1004244.
- ⁴² Vanaerschot M, Decuypere S, Downing T, Imamura H, Stark O, De Doncker S, Roy S, Ostyn B, Maes L, Khanal B, Boelaert M, Schönian G, Berriman M, Chappuis F, Dujardin JC, Sundar S, Rijal S. Genetic markers for SSG resistance in *Leishmania donovani* and SSG treatment failure in visceral leishmaniasis patients of the Indian subcontinent. *J. Infect. Dis.* 2012;206:752-5.
- ⁴³ Vanaerschot M, Decuypere S, Berg M, Roy S, Dujardin JC. Drug-resistant microorganisms with a higher fitness—can medicines boost pathogens? *Crit. Rev. Microbiol.* 2013;39:384-94.
- ⁴⁴ Rai K, Cuypers B, Bhattarai NR, Uranw S, Berg M, Ostyn B, Dujardin JC, Rijal S, Vanaerschot M. Relapse after treatment with miltefosine for visceral leishmaniasis is associated with increased infectivity of the infecting *Leishmania donovani* strain. *MBio.* 2013;4:e00611-13.
- ⁴⁵ Jeddi F, Mary C, Aoun K, Harrat Z, Bouratbine A, Faraut F, Benikhlef R, Pomares C, Pralong F, Marty P, Piarroux R. Heterogeneity of molecular resistance patterns in antimony-resistant field isolates of *leishmania* species from the Western mediterranean area. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014;58:4866-74.
- ⁴⁶ Seblova V, Oury B, Eddaikra N, Aït-Oudhia K, Pralong F, Gazanion E, Maia C, Volf P, Sereno D. Transmission potential of antimony-resistant *Leishmania* field isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014. pii: AAC.02406-13.
- ⁴⁷ Schönian G, Kuhls K, Mauricio IL. Molecular approaches for a better understanding of the epidemiology and population genetics of *Leishmania*. *Parasitology.* 2011;138:405-25.
- ⁴⁸ Schönian G, Mauricio I, Gramiccia M, Cañavate C, Boelaert M, Dujardin JC. Leishmaniasis in the Mediterranean in the era of molecular epidemiology. *Trends Parasitol.* 2008;24:135-42.
- ⁴⁹ Cruz I, Millet A, Carrillo E, Chenik M, Salotra P, Verma S, Veland N, Jara M, Adauí V, Castrillón C, Arévalo J, Moreno J, Cañavate C. An approach for interlaboratory comparison of conventional and real-time PCR assays for diagnosis of human leishmaniasis. *Exp. Parasitol.* 2013;134:281-9.
- ⁵⁰ Martínez V, Quilez J, Sanchez A, Roura X, Francino O, Altet L. Canine leishmaniasis: the key points for qPCR result interpretation. *Parasit. Vectors.* 2011;4:57.
- ⁵¹ Gadisa E, Custodio E, Cañavate C, Sordo L, Abebe Z, Nieto J, Chicharro C, Aseffa A, Yamuah L, Engers H, Moreno J, Cruz I. Usefulness of the rK39-immunochromatographic test, direct agglutination test, and leishmanin skin test for detecting asymptomatic *Leishmania* infection in children in a new visceral leishmaniasis focus in Amhara State, Ethiopia. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;86:792-8.
- ⁵² Michel G, Pomares C, Ferrua B, Marty P. Importance of worldwide asymptomatic carriers of *Leishmania infantum (L. chagasi)* in human. *Acta Trop.* 2011;119:69-75.
- ⁵³ de La Llave E, Lecoeur H, Besse A, Milon G, Prina E, Lang T. A combined luciferase imaging and reverse transcription polymerase chain reaction assay for the study of *Leishmania amastigote* burden and correlated mouse tissue transcript fluctuations. *Cell Microbiol.* 2011;13:81-91.
- ⁵⁴ Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, Ferrer L. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. *J Clin Microbiol.* 2001;39:560-3.
- ⁵⁵ Millán J, Ferroglio E, Solano-Gallego L. Role of wildlife in the epidemiology of *Leishmania infantum* infection in Europe. *Parasitol. Res.* 2014;113:2005-14.
- ⁵⁶ García N, Moreno I, Alvarez J, de la Cruz ML, Navarro

- A, Pérez-Sancho M, García-Seco T, Rodríguez-Bertos A, Conty ML, Toraño A, Prieto A, Domínguez L, Domínguez M. Evidence of *Leishmania infantum* infection in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in a natural area in Madrid, Spain. *Biomed Res. Int.* 2014;2014:318254.
- ⁵⁷ Carrillo E, Moreno J, Cruz I. What is responsible for a large and unusual outbreak of leishmaniasis in Madrid? *Trends Parasitol.* 2013;29:579-80.
- ⁵⁸ Jiménez M, González E, Martín-Martín I, Hernández S, Molina R. Could wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) be reservoirs for *Leishmania infantum* in the focus of Madrid, Spain? *Vet. Parasitol.* 2014;202:296-300.
- ⁵⁹ Molina R, Jiménez MI, Cruz I, Iriso A, Martín-Martín I, Sevillano O, Melero S, Bernal J. The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania infantum* in Spain. *Vet. Parasitol.* 2012;190:268-71.
- ⁶⁰ Blackwell JM, Fakiola M, Ibrahim ME, Jamieson SE, Jeronimo SB, Miller EN, Mishra A, Mohamed HS, Peacock CS, Raju M, Sundar S, Wilson ME. Genetics and visceral leishmaniasis: of mice and man. *Parasite Immunol.* 2009;31:254-66.
- ⁶¹ Blackwell JM, Goswami T, Evans CA, Sibthorpe D, Papo N, White JK, Searle S, Miller EN, Peacock CS, Mohammed H, Ibrahim M. SLC11A1 (formerly NRAMP1) and disease resistance. *Cell Microbiol.* 2001;3:773-84.
- ⁶² Solano-Gallego L, Llull J, Ramos G, Riera C, Arboix M, Alberola J, Ferrer L. The Ibizian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Vet. Parasitol.* 2000;90:37-45.
- ⁶³ Sanchez-Robert E, Altet L, Utzet-Sadurni M, Giger U, Sanchez A, Francino O. Slc11a1 (formerly Nramp1) and susceptibility to canine visceral leishmaniasis. *Vet. Res.* 2008;39:36.
- ⁶⁴ van Walle I. ECDC starts pilot phase for collection of molecular typing data. *Euro Surveill.* 2013;18:20357.
- ⁶⁵ <http://www.eubrazilcloudconnect.eu/who-is-involved>
- ⁶⁶ <http://www.eubrazilcloudconnect.eu/Leishmaniasis-Virtual-Laboratory>.

VIGILANCIA DEL VECTOR

Ángeles Vázquez², Ana Tello², Andrés Iriso¹, Dolores González²,
Raimundo Outerelo², M^a Dolores Martínez² y Ana G. Moreno²

¹ Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

² Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid.

Resumen

Con motivo del brote de leishmaniasis en el suroeste de la Comunidad de Madrid, desde 2011 se ha establecido un programa de seguimiento de los posibles vectores de la enfermedad. Los objetivos han sido conocer la presencia y la distribución de los flebotomos en el área del brote, valorar los niveles de riesgo para la población y orientar las actuaciones de tratamiento y de lucha contra el vector, así como de información a los ciudadanos. Tras la toma de muestras con 5.501 trampas, se han capturado más de 78.492 flebotomos pertenecientes a la especie *Phlebotomus perniciosus*, uno de los vectores demostrados de la enfermedad y, en un porcentaje menor, *Sergentomyia minuta*, que no se suele alimentar de mamíferos y, por lo tanto, no se le atribuye un papel vectorial en este episodio. Se han muestreado los cuatro municipios en los que se ha detectado el brote: Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid. Las densidades más elevadas se encuentran en el parque Polvoranca y el Arroyo Culebro de Leganés y en el barrio El Naranjo de Fuenlabrada.

Introducción

La Leishmaniasis es una enfermedad producida por distintas especies del género *Leishmania* transmitida por la picadura de las hembras de flebotomos. Está presente, con distinto grado de impacto, en todos los continentes excepto en Australia y la Antártida¹. En los países de la Europa Mediterránea la leishmaniasis humana es una enfermedad endémi-

ca producida, con mayor frecuencia, por *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 y transmitida por varias especies de flebotomos (Diptera: *Psychodidae*: *Phlebotomus* spp.)^{2,3}. Dado el gran número de reservorios del patógeno, demostrados algunos y con muchas evidencias otros, el estudio de las poblaciones de los flebotomos, vectores de la enfermedad, se torna prioritario para comprender la posible evolución de la incidencia de la misma. Debido al carácter críptico de las fases jóvenes del vector, la vigilancia de la presencia de los adultos y su abundancia se hacen imprescindibles para poder abordar su control y poder mantener las poblaciones a niveles inferiores que permitan descender el impacto de la enfermedad⁴.

En el último trimestre de 2010 la Red de Vigilancia Epidemiológica de la Comunidad de Madrid detectó un aumento significativo en el número de casos de leishmaniasis en la zona suroeste. La investigación epidemiológica ha permitido establecer el inicio de este brote en el segundo semestre de 2009⁵. Debido al notable aumento de episodios en Fuenlabrada y Leganés, en el año 2011 comienza un estudio de la evolución de las poblaciones de los vectores dentro de los municipios, incluyendo los parques de Bosque Sur y Polvoranca. En los años siguientes se ha ampliado la red de vigilancia a distintos puntos correspondientes a Getafe y Humanes de Madrid, por haberse detectado un aumento en la prevalencia de esta enfermedad. La vigilancia del vector tiene como objetivo conocer la distribución y presencia de flebotomos en el área del brote, valorar los niveles de riesgo para la población y orientar las actuaciones tanto de trata-

miento y de lucha contra el vector como de información a los ciudadanos.

Materiales y métodos

Selección de las áreas de muestreo

Como se expone en la biología del vector, los flebotomos se desarrollan en una gran variedad de biotopos como madrigueras, huecos en muros, establos, corrales, raíces de árboles, jardines, sótanos, zanjas, alcantarillas, hendiduras del terreno, ruinas, vertederos y otros. Todos ellos son lugares en los que pueden encontrar áreas de refugio con temperatura moderada, escasa iluminación, humedad alta y materia orgánica para el crecimiento de las larvas ⁶.

Para realizar la selección de las estaciones de muestreo a lo largo de los años de vigilancia del vector se tuvo en consideración que fueran hábitats adecuados para su desarrollo y su asociación con casos de leishmaniasis humana. En el Anexo I se detalla para cada estación de muestreo los datos de captura de flebotomos de los años 2011, 2012 y 2013 para los municipios en estudio, Fuenlabrada, Getafe, Humanes de Madrid y Leganés, geográficamente cercanos y que comparten amplios espacios de parques urbanos. En el año 2013 se realizaron, además, estudios de detalle semanales y un ensayo en el Parque Polvoranca (Anexo II).

Método de captura

Para este seguimiento los flebotomos se han capturado mediante trampas adhesivas que consisten en media hoja de papel DIN A4, impregnadas con aceite de ricino (Figura 1, Trampa Lega-Polv-01-3 27-07/03-08 del año 2012), en el cual se quedan adheridos ⁷.

Teniendo en cuenta su dinámica poblacional, los muestreos se prolongaron cada año desde mayo-ju-

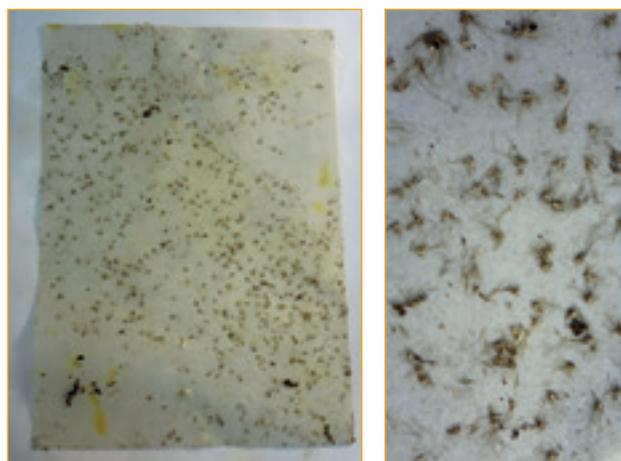


Figura 1. Trampa Lega-Polv-01-3 27-07/03-08 del año 2012 y ampliación de la misma. Fotos: Ana Tello.

nio hasta octubre-noviembre. Las trampas se colocaron en áreas cercanas a lugares donde se habían detectado casos de leishmaniasis humana, sobre todo en niños menores de 2 años y en personas mayores de 70 años, en los que existían lugares propicios para la presencia del vector. Se renovaban cada una o dos semanas, lo que nos permitió conocer la presencia, distribución y densidades de las distintas especies de flebotomos en el área del brote del suroeste de la Comunidad de Madrid.

Tratamientos de las muestras

Las trampas adhesivas, una vez recogidas, se mantienen en cámara frigorífica a 4 °C hasta su manipulación para separar e identificar los flebotomos capturados.

Cada trampa adhesiva se estudia bajo una lupa binocular para separar los dípteros nematóceros de la familia *Psychodidae*, subfamilia *Phlebotominae*. Los individuos separados se conservan en etanol absoluto con su correspondiente etiqueta (nombre de la estación de muestreo, fecha de puesta y recogida de la trampa y código de muestra), hasta su identificación.

Los ejemplares extraídos se montan en una preparación microscópica siguiendo la metodología habitual para este grupo; para los machos se usa como medio el líquido de Berlese; las hembras se introducen previamente, durante al menos 24 horas, en la goma de cloral de Marc André y se procede a su montaje en este mismo medio.

La identificación de las especies se ha basado fundamentalmente en las claves de Theodor ⁸ y ⁹, Léger et al. ¹⁰, Vaillant ¹¹, Gállego et al. ¹² y Martínez Ortega y Conesa ¹³. Las especies predominantes son *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911 (Figura 2) y *Sergentomyia minuta* Randoni, 1843 (Figura 3).

Resultados

Los datos pormenorizados de estudio figuran en el trabajo Tello et al ¹⁴.

En el año 2011 la especie con mayor número de ejemplares es *Phlebotomus perniciosus*, con un



Figura 2. Macho y hembra *Phlebotomus perniciosus*. Fotos: Ana Tello.



Figura 3. Macho y hembra *Sergentomyia minuta*.

Fotos: Ana Tello.

63,1%, vector responsable de la transmisión de *L. infantum*, como figura en el Anexo I tabla 1.

Según la OMS¹⁵, hay poca información para poder relacionar con exactitud la densidad de flebotomos con las tasas de infección por leishmaniasis, pero en distintos informes oficiales se considera que una densidad superior de 50 flebotomos/m² es capaz de mantener el ciclo de infección. Tanto Fuenlabrada con 59,8 flebotomos/m² como Leganés con 57,7 flebotomos/m² superan dicho valor. Cabe destacar que ciertos puntos del municipio de Leganés no se muestrearon en septiembre, por lo que su valor de densidad queda algo minusvalorado.

En el año 2012 la especie con mayor número de ejemplares es *P. perniciosus*, con un 66,1%, como figura en el Anexo I tabla 2.

Las densidades son por lo general elevadas, con valores mayores de 50 flebotomos/m² en tres de los cuatro municipios de muestreo. Los valores de densidades más altos se presentan en los municipios de Leganés con 404,6 flebotomos/m² y Humanes de Madrid con 94,6 flebotomos/m². Cabe destacar, dentro de Fuenlabrada, la estación de CEA Bosque Sur, con una densidad de 157,2 flebotomos/m².

En el año 2013 la especie con mayor número de ejemplares es *P. perniciosus*, con un 59,5%, como figura en el Anexo I tabla 3.

Las densidades en dicho año son por lo general elevadas, pero disminuyen ligeramente con respecto al año anterior, aunque se siguen encontrando valores superiores a los 50 flebotomos/m² en tres de los cuatro municipios de muestreo. Los valores de

densidades más altos se presentan en los municipios de Leganés con 249,5 flebotomos/m² y Humanes de Madrid con 93,7 flebotomos/m². Aunque no supera los 50 flebotomos/m², Getafe sube ligeramente su densidad (42,0 flebotomos/m²) con respecto al año anterior (38,9 flebotomos/m²).

Los muestreos no han sido equiparables en todos los municipios, ya que en la colocación de las trampas se ha atendido a los criterios citados en su momento: proximidad a casos de leishmaniasis humana y características propicias para la cría de los flebotomos. Por eso, las densidades globales por municipio no deben interpretarse como único indicio de presencia de los vectores, valga como ejemplo Humanes de Madrid, donde en 2013 se tomaron 65 muestras y Fuenlabrada donde se recogieron 792 muestras en el mismo periodo, pero en una zona mucho más amplia y las poblaciones del vector parecen más extendidas.

En este año 2013 también se realizaron:

- Estudios de detalle. Con el fin de buscar zonas de refugio y cría del vector, se eligieron puntos distintos de los anteriores, donde se sospechaba ser refugio o criadero del vector. Las densidades se presentan en el Anexo II figura 1 y en él se observa la elevada densidad de *P. perniciosus* en dos de las estaciones: Bosque Sur (Fuenlabrada) con 312,7 flebotomos/m² y Getafe Sector III con 232,5 flebotomos/m².

Los puntos que figuran en la figura 1 se corresponden: en Fuenlabrada, entorno C/ Constitución (Fuen-Const-01), entorno Avda. Europa (Fuen-Eur-01), IES Atenea (Fuen-Aran-01), IES Victoria Kent (Fuen-Kent-01), Bosque Sur (Barranco Cantoechado) (Fuen-BS-01); en Leganés, Ciudad Escuela Muchachos (Lega-CEMU-01), CEA parque Polvoranca, interior del centro (Lega-Polv-01) y en Getafe, Getafe Sector III (Geta-Sec-III).

- Estudios semanales. Se seleccionaron puntos en los que se observaban densas poblaciones para hacer un seguimiento pormenorizado en el tiempo. En Arroyo Culebro (Leganés) fue donde se obtuvieron mayores densidades de *P. perniciosus* (1.199,3 flebotomos/m²).
- Ensayo en el parque Polvoranca (Leganés): se realiza en algunos registros de la red de pluviales desde junio hasta los primeros días de septiembre, debido a la elevada densidad de flebotomos de la zona. El fin de dicho estudio es evaluar la eficacia de distintos insecticidas de mayor efecto residual (K-Othrine WG 250, Inesfly 5A IGR y Solfac WP10). Los resultados indican que en las condiciones en las que se ha podido realizar el ensayo no se obtienen resultados concluyentes sobre su eficacia. En el Anexo II tabla 4, se observa un resumen total de los datos, y en la figura 2, el gran porcentaje de machos presentes en la zona (72%).

Conclusiones

La situación del vector en el año 2013 refleja una bajada de actividad en la zona del brote, aunque sigue siendo elevada en las estaciones de muestreo de los municipios de Fuenlabrada y Leganés situadas en el entorno de los parques de Bosque Sur y Polvoranca. A la elevada densidad probablemente han contribuido las alteraciones del territorio (obras, creación de parques, climatología) y el

incremento en las poblaciones de reservorios silvestres.

Las actuaciones ambientales de modificación y destrucción del hábitat y la aplicación de tratamientos insecticidas han logrado resultados positivos en algunos de los puntos de mayor actividad del vector. Se debe continuar con dichas actuaciones adaptándolas al ciclo epidemiológico de la enfermedad y profundizar en el estudio de la biología y de los factores que inciden en la densidad del vector.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ OMS. Leishmaniasis. Nota descriptiva N°375 [actualizado en enero de 2014; citado 29/04/2014] Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/es/>
- ² Ready P D. Biology of Phlebotomine Sand Flies as Vectors of Disease Agents Annu. Rev. Entomol. 2013 ; 58:227–50.
- ³ Antoniou MG, Molina R, Dvorak V, Volf P. The role of indigenous phlebotomine sandflies and mammals in the spreading of leishmaniasis agents in the Mediterranean region. Eurosurveillance. 2013; 18(30): 25 July
- ⁴ Centro Nacional de Epidemiología. Protocolos de las enfermedades de declaración obligatoria .Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 1996. [citado 29/04/2014] Disponible en: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/atencion-a-la-salud-de-la-comunidad/materiales/Tema%2015.pdf>
- ⁵ Informe Leishmaniasis Área 9. Informe sobre el brote comunitario de leishmaniasis en municipios del suroeste de la Comunidad de Madrid (2009 - 2011). Elaborado por: Subdirección de Promoción de la Salud y Prevención. Subdirección General de Sanidad Ambiental y Epidemiología. 2011, pp1-37 [citado 29/04/2014] Disponible en https://www.google.es/search?q=Subdirecci%C3%B3n+de+Promoci%C3%B3n+de+la+Salud+y+Prevenci%C3%B3n.+Subdirecci%C3%B3n+General+de+Sanidad+Ambiental+y+Epidemiolog%C3%ADa.+2011.&oq=Subdirecci%C3%B3n+de+Promoci%C3%B3n+de+la+Salud+y+Prevenci%C3%B3n.+Subdirecci%C3%B3n+General+de+Sanidad+Ambiental+y+Epidemiolog%C3%ADa.+2011.&aqs=chrome..69i57.1331j0j8&sourceid=chrome&es_sm=122&ie=UTF-8#q=Informe+Leishmaniasis+%C3%81rea+9.+Informe+sobre+el+brote+comunitario+de+leishmaniasis
- ⁶ Molina R. Leishmaniasis canina. Los flebotomos: importancia sanitaria. Información veterinaria. 2005; 6: 20-24.
- ⁷ Rioux JA, Golvan YJ, Croset H, Houin R, Juminer B, Bain O, Tour S. Ecologie des Leishmanioses dans le sud de la France 1. Les Phlébotomes. Echantillonnage-Ethologie. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 1967; 42: 561-603.
- ⁸ Theodor O. Classification of the Old World species of the subfamily Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). Bulletin Entomological Research 1948, 39: 85-115.
- ⁹ Theodor O. Psychodidae-Phlebotominae.-In Lindner, E. Flieg. pal. Reg. 1958, 201, 1-55.
- ¹⁰ Léger N, Pesson B., Madulo-Leblond G, Abonnenc E. Sur la différenciation des femelles du sous-genre *Larrousius* Nitzulescu, 1931 (Diptera, Phlebotomidae) de la région méditerranéenne. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 1983, 58 (6): 611-623.
- ¹¹ Vaillant F. Psychodidae - Psychodinae. In: E. Lindner, ed. Die Fliegen der Palaearktischen Region, 9d, Lieferung, 1971, 287: 1-48.
- ¹² Gállego J, Botet J, Gállego M, Portús M. Los flebotomos de la España Peninsular e Islas Baleares. Identificación y corología. Comentarios sobre los métodos de captura. "In memoriam" al profesor Doctor D.E. de P. Martínez Gómez, Universidad de Barcelona, 1992: 58, 580-600.
- ¹³ Martínez E, Conesa E. Caracteres morfológicos de interés taxonómico de los flebotomos (Diptera, Psychodidae) de la Península Ibérica. Anales de Biología II, 1987; 43-53.
- ¹⁴ Tello A, González Mora D, Outerelo R, Iriso A, Vázquez M Á. Los flebotomos del brote de leishmaniasis en el suroeste de la Comunidad de Madrid (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. Sec. Biol., 109, 2015, 57-64
- ¹⁵ OMS, Serie de Informes Técnicos 949. Control de las leishmaniasis: informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las Leishmaniasis, Ginebra, 22 a 26 de marzo de 2010. OMS, Serie de Informes Técnicos 949. 9/21/2012 [citado 29/04/2014] Disponible en http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO_TRS_949_spa.pdf

ANEXO I

DATOS SEGÚN LOS MUNICIPIOS DE MUESTREO 2011-2013

Tabla 1
DATOS CAPTURAS AÑO 2011

CÓDIGO-M	% P. PER.	PP_DS_TOT	SM_DS_TOT
Fuenlabrada	60,1	59,8	39,6
Leganés	75,4	57,7	18,8
Total	63,1	59,3	34,6

Fuente: Departamento de Zoología y Antropología Física UCM.

Tabla 2
DATOS CAPTURAS AÑO 2012

CÓDIGO-M	% P. PER.	PP_DS_TOT	SM_DS_TOT
Fuenlabrada	58,8	73,2	51,4
Getafe	38,8	38,9	61,4
Humanes de Madrid	50,4	94,6	93,0
Leganés	77,0	404,6	121,1
Total	66,1	143,8	73,6

Fuente: Departamento de Zoología y Antropología Física UCM.

Tabla 3
DATOS CAPTURAS AÑO 2013

CÓDIGO-M	% P. PER.	PP_DS_TOT	SM_DS_TOT
Fuenlabrada	60,1	61,5	40,8
Getafe	27,9	42,0	108,6
Humanes de Madrid	45,1	93,7	114,0
Leganés	68,2	249,5	116,3
Total	59,5	116,7	79,4

Fuente: Departamento de Zoología y Antropología Física UCM.

ANEXO II

FIGURAS Y TABLAS DE LOS ESTUDIOS DE DETALLE Y ENSAYO EN EL PARQUE POLVORANCA

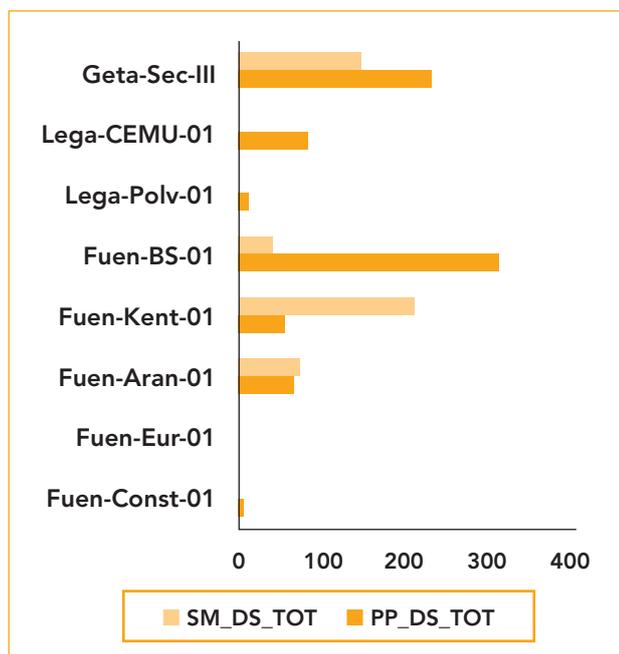


Figura 1. Densidades por estaciones de muestreo (fleb/m²) estudios de detalle año 2013. Densidad total de *P. perniciosus* (PP_DS_TOT) y de *S. minuta* (SM_DS_TOT).

Fuente: Departamento Zoología y Antropología Física UCM.

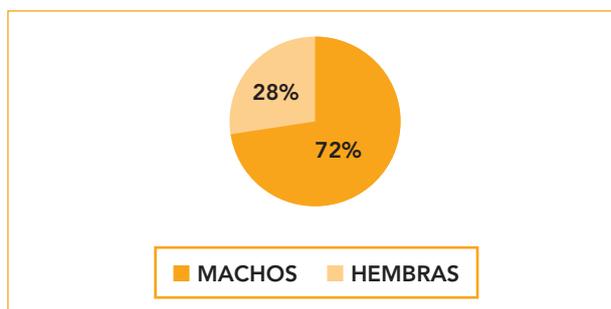


Figura 2. Porcentaje de machos y hembras de flebotomos capturados en el ensayo del Parque Polvoranca en todos los registros muestreados.

Fuente: Departamento Zoología y Antropología Física UCM.

Tabla 4

DATOS TOTALES DEL ENSAYO EN EL PARQUE POLVORANCA 2013

DATOS	NÚMERO DE TRAMPAS	TRAMPAS AFECTADAS	MACHOS	HEMBRAS	DETERIORADOS
Total	273	260	15.351	6.062	104

Fuente: Departamento de Zoología y Antropología Física UCM.

CONTROL DEL VECTOR

Andrés Iriso¹, Ana Tello², Dolores González-Mora², M^a Ángeles Vázquez²,
Ricardo Molina³, Maribel Jiménez³ y Javier Lucientes⁴

¹ Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

² Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. ³ Instituto de Salud Carlos III.

⁴ Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

Dirección General de Agricultura y Ganadería, Consejería de Medio Ambiente,
Administración Local y Ordenación del Territorio. Comunidad de Madrid.

Introducción

El control del flebotomo vector incluye las actuaciones que se diseñan para reducir su actividad en los lugares de transmisión y el contacto con la población susceptible. En los últimos años se han publicado varias revisiones sobre el tema¹⁻¹⁰. Tradicionalmente se han aplicado tres tipos de medidas: la gestión del medio, el uso de insecticidas y la protección de los individuos mediante barreras físicas y productos repelentes¹.

Este capítulo se va a centrar en describir las actuaciones de carácter ambiental y de aplicación de insecticidas, ya que la comunicación y la promoción del uso de medidas de protección de los individuos se describe en otro capítulo.

Las actividades de control han requerido un gran esfuerzo organizativo y de planificación, tanto para el diseño como posteriormente para su ejecución, debido a la amplitud y complejidad del área afectada, fuertemente urbanizada, con una superficie aproximada de 125 km² y una población de más de 500.000 habitantes, en el cinturón urbano del municipio de Madrid; y a la gran dispersión y variedad de los enclaves donde cría y encuentra refugio el flebotomo vector.

Siguiendo el esquema metodológico en la implantación de un sistema integral de gestión de plagas, se describen a continuación el diagnóstico de situación, las actuaciones de control y la evaluación final de estas medidas.

Diagnóstico y evaluación de la situación

La implantación de medidas de control requiere conocer cómo se distribuye y se comporta el vector y, por consiguiente, la elaboración de un diagnóstico previo de la situación es una herramienta fundamental.

La estrategia de muestreo se ha establecido teniendo en cuenta la distribución espacial de los casos humanos, la localización de los potenciales reservorios y fuentes de alimentación del vector (liebre, conejo, perros, gatos, etc.) y, finalmente, la existencia de áreas apropiadas para la presencia de sus poblaciones.

En el diseño de esta estrategia se ha considerado como hipótesis de trabajo que las picaduras se producían en la cercanía de la vivienda de las personas afectadas y que existían múltiples focos de transmisión. Esto se debe, de una parte, a la escasa capacidad de desplazamiento del vector que refieren la mayor parte de los trabajos de investigación sobre el tema¹¹⁻¹³ y, de otra, a la inexistencia de un patrón en el estudio epidemiológico que identificara áreas concretas de transmisión.

Por ello, se ha aplicado un doble enfoque, que incluye la vigilancia general del área afectada a lo largo del periodo de actividad estacional del vector (de mayo a noviembre), mediante una red de puntos de muestreo, y la realización de estudios de detalle en ciertos momentos y áreas de interés para identificar lugares de cría y refugio.

El muestreo ha permitido constatar la complejidad del brote (que ya venía reflejada en la distribución de los casos humanos) desde el punto de vista del vector, que se distribuye por toda el área afectada y está presente, tanto en zonas periurbanas como en el interior del entramado urbano de los municipios afectados, con densidades frecuentemente muy elevadas.

Vigilancia

La vigilancia del flebotomo tiene como objetivo conocer la distribución y presencia de las especies vectoras, valorar los niveles de riesgo para la población y orientar las actuaciones de tratamiento, de lucha antivectorial y de información a los ciudadanos.

Esta vigilancia responde a dos cuestiones principales:

- Conocer la evolución temporal de las densidades y la distribución espacial de los flebotomos. ¿Dónde y en qué momento hay mayor presencia del vector?
- Conocer el nivel de infección para identificar el momento en que comienza la capacidad de transmisión del vector.



Trampa adhesiva en registro.



Trampa de luz. Parque de la Alhóndiga.

Figura 1. Detalle de colocación de trampas.

La vigilancia incluye el muestreo de aproximadamente 120 puntos, donde se colocan trampas adhesivas cada semana o cada quince días, y cuatro puntos en los que se colocan mensualmente trampas de luz.

El número y ubicación de estos puntos de muestreo se ha mantenido con ligeras variaciones desde 2012. En la figura 2 se muestra la ubicación de las estaciones y puntos de muestreo de trampas adhesivas y de luz.

En el caso de las trampas adhesivas se han establecido 22 estaciones de muestreo: 11 en el municipio de Fuenlabrada, 6 en el de Leganés, 4 en el de Getafe y 1 en el de Humanes de Madrid. En cada una de ellas se han dispuesto 5 trampas. El muestreo se realiza de mayo a octubre con periodicidad quincenal.

Su localización se basa fundamentalmente en dos tipos de criterios: de una parte la cercanía a los casos de leishmaniasis humana, en particular de aquellos que hubieran afectado a niños menores de 2 años y a personas mayores de 70 años, y de otra, la existencia de lugares apropiados para la presencia del vector (áreas con abundancia de reservorio, parques y otras áreas especialmente frecuentadas, existencia de elementos de riesgo como granjas y otros).

En este muestreo han participado siete equipos formados por personal municipal y de la Dirección General de Salud Pública. Dos de ellos realizan el muestreo en el municipio de Leganés, cuatro en Fuenlabrada, uno en Getafe y otro en Humanes. La identificación se realiza en el Departamento de Zoología y Antropología Física de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid³⁰.

Las trampas de luz se colocan en cuatro puntos: tres en el municipio de Fuenlabrada (Bosque Sur) y un cuarto en el de Leganés (parque Polvoranca). Estos puntos corresponden a áreas de transmisión con altas densidades de flebotomos y presencia de reservorio. Se colocan mensualmente durante un periodo de dos noches seguidas.

Este muestreo lo realiza el Laboratorio de Entomología Médica del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y obtiene información sobre las tasas de infección por *Leishmania* de los flebotomos y la procedencia de la sangre de la que se alimentan.

Estas actividades de vigilancia permiten identificar áreas de actuación prioritaria según los niveles de densidad detectados y programar las actuaciones en función del comportamiento de vector. Asimismo, permite diseñar medidas alternativas de modificación ambiental y una reducción en el uso de insecticidas.

En la figura 3 se incluye un mapa con las densidades de *Phlebotomus perniciosus* obtenidas en 2014.

Se observa que el parque Polvoranca y el Arroyo Culebro en el municipio de Leganés, Bosque Sur en

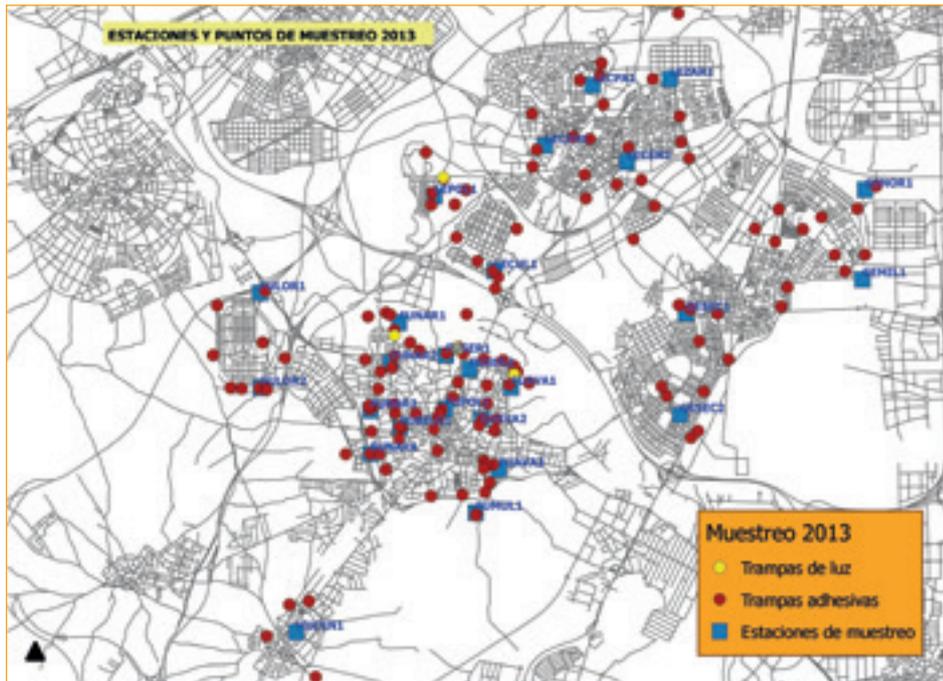


Figura 2. Ubicación de las estaciones y puntos de muestreo de trampas adhesivas y de luz.

Fuenlabrada y el parque de la Alhóndiga en Getafe, son las áreas de mayor presencia del vector.

Así mismo, se detectan puntos en el interior del trazado urbano con poblaciones estables del vector que plantean interrogantes en relación con los lugares de cría y transmisión y, la conexión de estas poblaciones con las existentes en el exterior.

Finalmente, la vigilancia permite establecer los momentos de mayor riesgo de transmisión según las densidades encontradas del vector así como por sus tasas de infección. En el gráfico 1 se incluye el ciclo fenológico del vector en el año 2014.

Aunque con variaciones a lo largo de los años, en líneas generales, el final de agosto y el mes de septiembre es el periodo en el que se detecta mayor actividad.

Estudios de detalle

La elaboración del diagnóstico de situación se ha basado también en la realización de estudios de detalle en ciertas zonas de interés. En estas áreas se realiza un muestreo más exhaustivo, a fin de mejorar el conocimiento de la distribución y comportamiento del vector, ubicar lugares de cría y descanso y

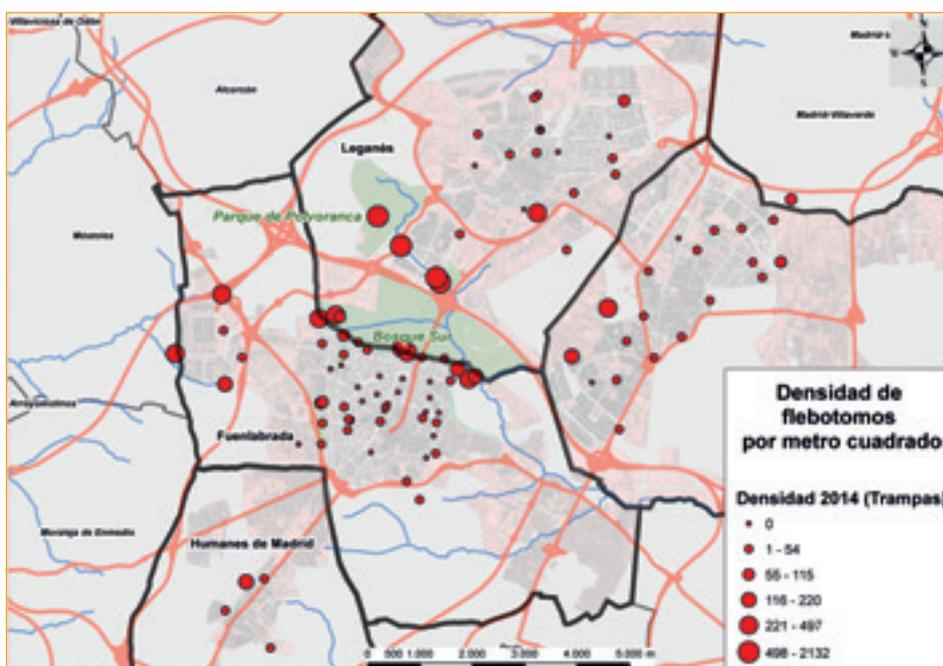


Figura 3. Densidad de *Phlebotomus perniciosus*. Muestreo trampas adhesivas.

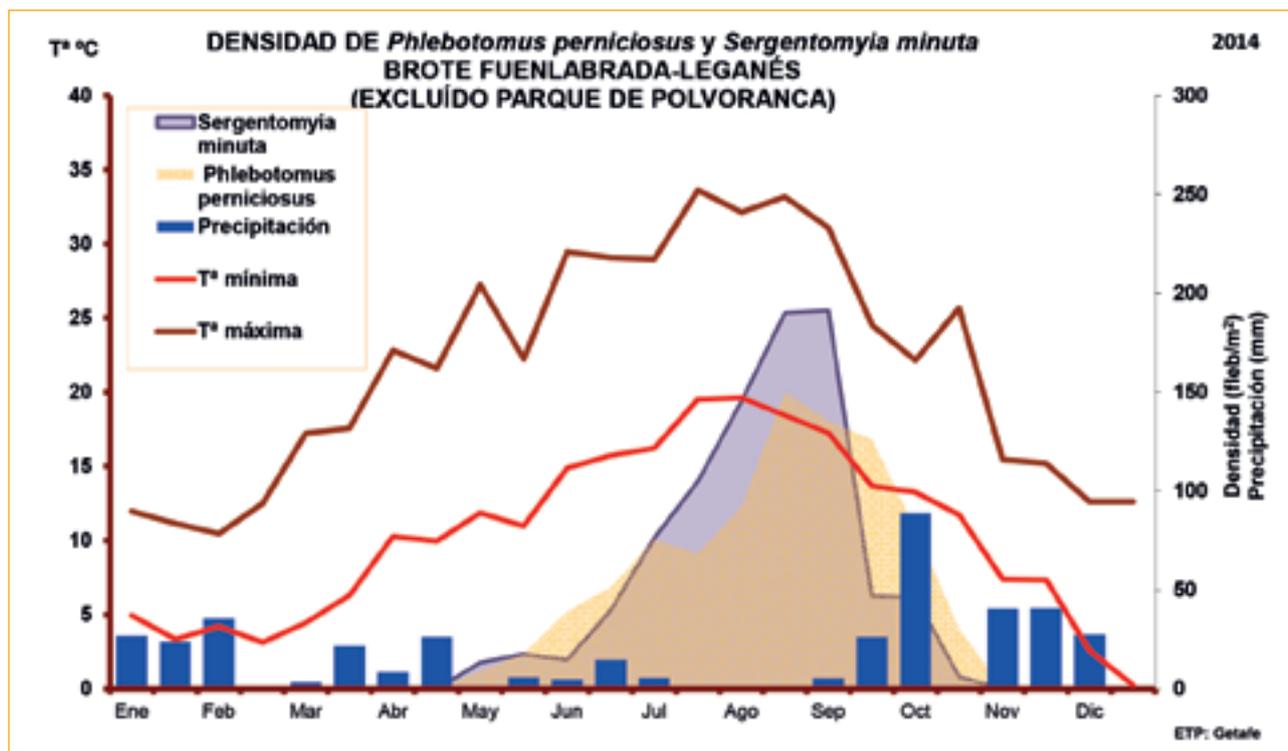


Gráfico 1.

diseñar actuaciones específicas¹⁴⁻¹⁶ de control y eliminación, tanto basadas en actuaciones de destrucción del hábitat como de aplicación de insecticidas.

En estos estudios se utilizan trampas adhesivas que se colocan durante periodos más cortos (3 ó 4 días) que los empleados en la vigilancia, siguiendo un doble criterio: bien en lugares en los que se supone que el flebotomo cría o puede buscar refugio después de alimentarse, bien en áreas de intercepción de su actividad en la búsqueda de hospedadores, aprovechando muros y áreas en sombra fundamentalmente.

En algunas áreas en las que se sospecha transmisión de la enfermedad se han empleado también trampas de luz, para conocer la tasa de infección de las hembras y sus fuentes de alimentación.

Desde 2012 se han realizado estudios de detalle en un total de 37 áreas. Generalmente, solo se muestrean una vez, aunque puntos especialmente conflictivos como el parque Polvoranca, Bosque Sur, el parque de la Alhóndiga y otros, se han muestreado en diversas ocasiones.

Las áreas estudiadas responden a las siguientes tipologías: grandes parques interurbanos (parque Polvoranca, Arroyo Culebro y Bosque Sur), parques urbanos (parque de la Alhóndiga, parque de Loranca, parque de la Paz, parque de los Estados) y áreas urbanas.

1. Muestreo en los grandes parques interurbanos

– Parque Polvoranca

El parque Polvoranca se muestrea quincenalmente de mayo a octubre desde 2011. Además

se han realizado todos los años varios estudios de detalle en diferentes momentos del año. Se trata de un área con una gran densidad de *Phlebotomus perniciosus* (prácticamente la única especie presente con más del 95% de las muestras), donde abunda la liebre.

En la figura 4 se incluye uno de los muestreos realizados. Destacan las densidades encontradas en la red de pluviales y en las tajetas de algunos de los caminos del parque.

– Bosque Sur

Bosque Sur es un parque situado frente al borde urbano de Fuenlabrada, donde más casos de leishmaniasis humana se han producido, y en el que se han detectado grandes densidades del vector con abundante presencia de liebre y de conejo como reservorio.

Como el parque anterior, se muestrea quincenalmente y se han realizado todos los años varios estudios de detalle. En la figura 5 se incluyen los resultados de uno de los muestreos realizados. Destacan las densidades encontradas en vivares, registros eléctricos, red de pluviales y muros con vegetación.

2. Muestreo de parques urbanos

Se han muestreado diversos parques municipales. En las figuras 6 y 7 se incluyen los resultados obtenidos en uno de los muestreos realizados en el parque Loranca y en el parque de la Alhóndiga, ambos parques incluidos también en el muestreo de vigilancia.



Figura 4. Densidad de *Phlebotomus perniciosus*. Estudio de detalle en parque Polvoranca.



Figura 5. Densidad de *Phlebotomus perniciosus*. Estudio de detalle en Bosque Sur.

El parque Loranca se caracteriza por densidades medias de flebotomo y presencia de conejos en su interior, que han sido ya eliminados. En este parque destacan los muros con trepadoras como los puntos de mayor densidad.

En el parque de la Alhóndiga las densidades de flebotomo son elevadas y hay presencia de liebre. Destacan las densidades encontradas en edificaciones en estado de abandono, registros eléctricos y áreas vegetadas, sobre todo de arizónicas.

3. Muestreos en áreas residenciales

A través de este muestreo se han buscado puntos de presencia importante de flebotomos en el interior de las áreas urbanas¹⁷. Se han muestreado centros e infraestructuras de diverso tipo, áreas de comunidades de vecinos y las calles aledañas.

En la figura 8 se incluye un mapa con la localización de los muestreos realizados en 2014, que se han centrado en Getafe, Leganés y sobre todo en el municipio de Fuenlabrada, el más afectado por el brote.

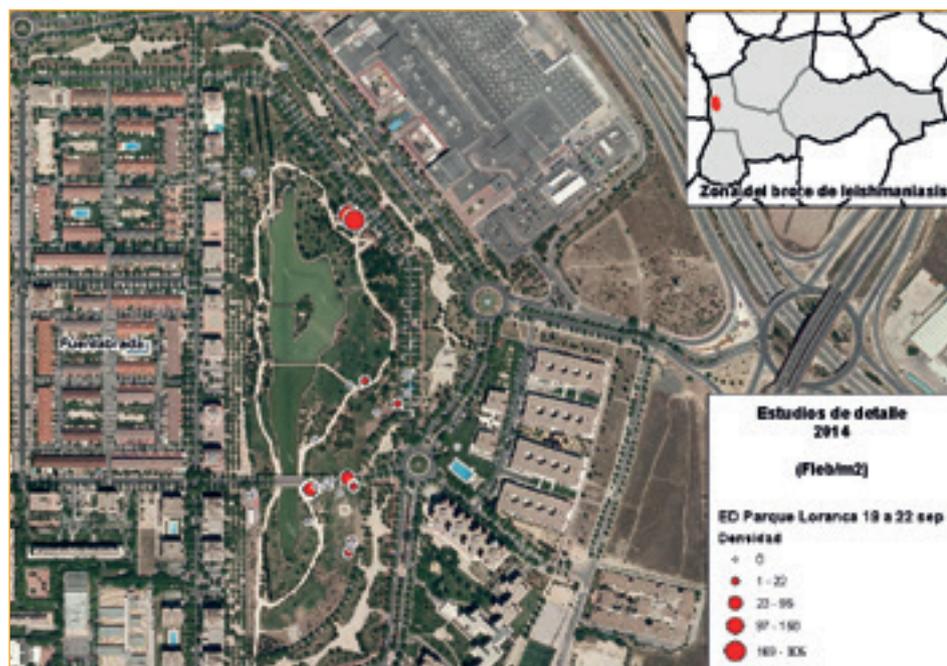


Figura 6. Densidad de *Phlebotomus perniciosus*. Estudio de detalle en parque Loranca.



Figura 7. Densidad de *Phlebotomus perniciosus*. Estudio de detalle en parque de la Alhóndiga.

Las densidades encontradas son elevadas, sobre todo en centros educativos situados cerca del borde urbano frente a Bosque Sur, pero también en puntos situados en el interior, donde existen colonias de gatos que pueden actuar como fuente de alimentación para las hembras de flebotomo.

En estos muestreos destacan como puntos más problemáticos los sótanos sanitarios de algunos edificios, las áreas descuidadas con cúmulos de materia orgánica y los muros y áreas vegetadas (arizónicas, hiedra).

En la figura 9 se incluyen los resultados de una de las áreas muestreadas, correspondiente al límite urbano de Fuenlabrada con Bosque Sur

Actuaciones de control

Las actuaciones de control del vector han ido variando a lo largo de los años y se han ido adaptando al conocimiento que se iba adquiriendo sobre sus lugares de cría y refugio, así como su comportamiento y distribución.

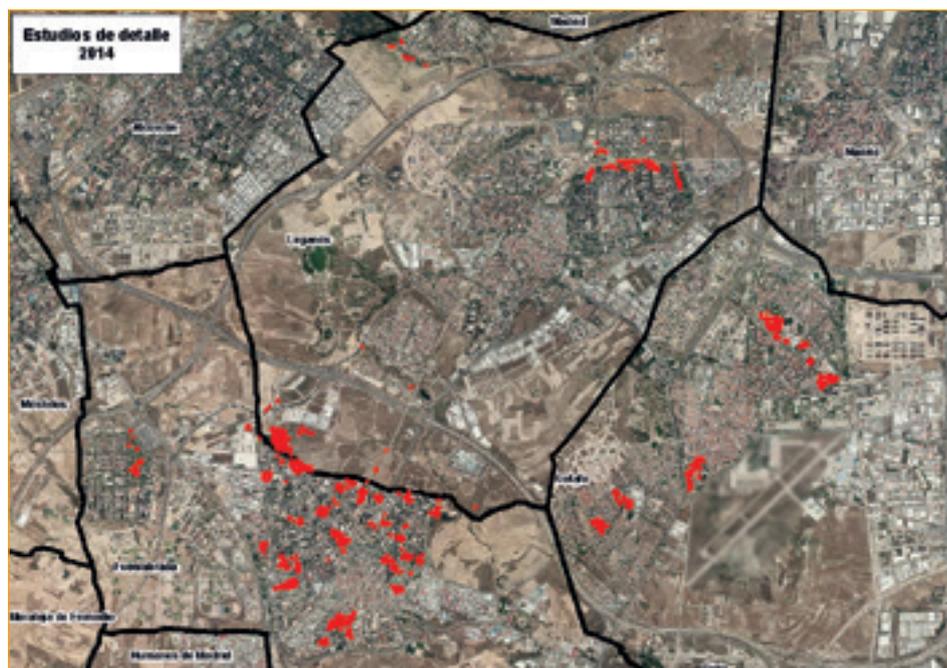


Figura 8. Localización estudios de detalle realizados en 2014.



Figura 9. Densidad de *Phlebotomus perniciosus*. Estudio de detalle en interior urbano.

En un primer momento, y todavía con el paradigma del perro como principal implicado, se optó por realizar un esfuerzo importante en el control del vector mediante el desbrozado de parques, la eliminación de los vertederos incontrolados existentes y el tratamiento insecticida de la red de saneamiento y de los parques urbanos e interurbanos.

Estas actuaciones, que se realizaron en 2011, se llevaron a cabo de forma general en todo el ámbito urbano y, en particular, en los principales parques y áreas de frecuentación de los municipios afectados.

A partir de 2012, una vez que se tuvo un mayor conocimiento de la presencia y distribución del vec-

tor, se plantearon actuaciones más específicas basadas en la realización de medidas ambientales de destrucción y modificación del hábitat y en la aplicación de insecticidas en áreas cercanas a las viviendas donde existían casos humanos y se observaban altos niveles de densidad de flebotomos.

Los parques interurbanos como el parque Polvoranca y Bosque Sur y los parques del borde urbano de Fuenlabrada (parque Norte y parque de la Olla) de Leganés (parque Arroyo Culebro) y de Getafe (parque de la Alhóndiga) han sido las áreas en las que la actuación ha sido más intensa (figura 10).

En cualquier caso, una vez definido el papel de

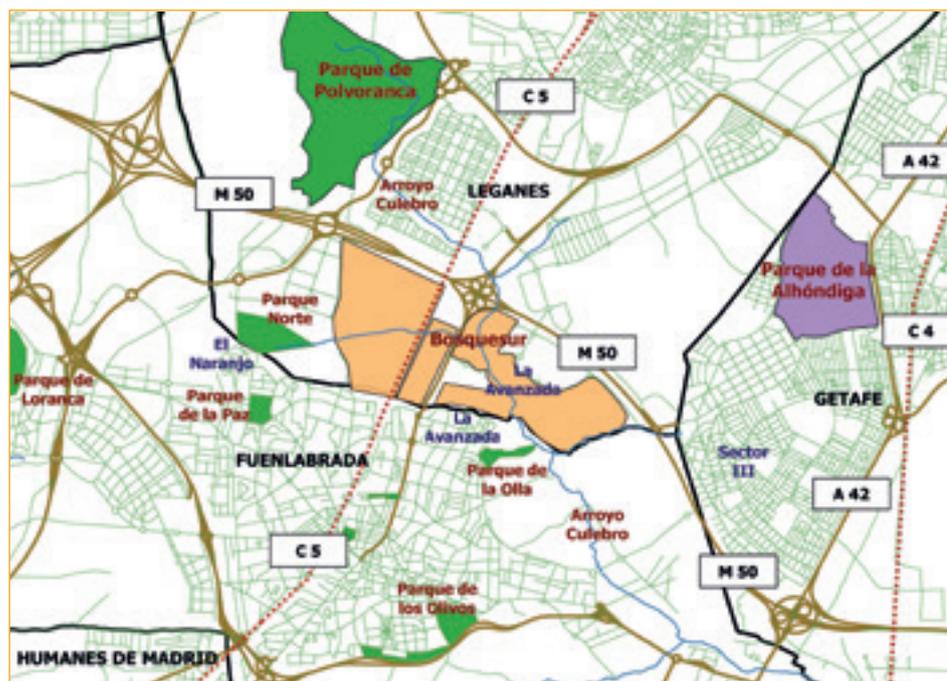


Figura 10. Parques urbanos e interurbanos de actuación prioritaria contra el vector.

la liebre y del conejo como reservorios en 2012, las actuaciones contra el vector han tenido un carácter complementario a la eliminación de lepóridos, que ha sido el instrumento fundamental de gestión del brote, estableciendo una pauta de actuación integrada como se recoge en otras experiencias existentes de control de la leishmaniasis^{1-10, 18-23}.

Tipología de las actuaciones

Las **actuaciones ambientales** han respondido a tres tipos fundamentales:

- Destrucción y modificación del hábitat: entre otras, el cerramiento y eliminación de vivares en el entorno de los primeros 500 metros alrededor de los límites urbanos, el enfoscado de grietas en paredes y pavimento y la retirada y cubrición de rocas.
- Creación de barreras físicas para impedir la actividad del vector: cierre y sellado de registros de pluviales y de pozos y cierre o colocación de mallas en las rejillas de ventilación de los sótanos sanitarios.
- Limitación de áreas de refugio y de alimentación: desbrozado, eliminación de vegetación excesiva y retirada de cúmulos de leña, restos vegetales y otros restos orgánicos.

La estrategia de **tratamiento insecticida** se ha basado en dos niveles de actuación. De una parte, con tratamientos ambientales por nebulización o termonebulización con insecticidas piretroides en momentos concretos del ciclo en áreas con especial densidad del vector y riesgo de transmisión por su cercanía a lugares habitados (parques interurbanos fundamentalmente) y, de otra, con la pulverización

de insecticidas piretroides con mayor capacidad residual en muros, registros, solares, granjas, tajeas, etc. en áreas cercanas a las viviendas o en el interior del casco urbano.

Se incluye a continuación una descripción de las medidas realizadas en las principales áreas de actuación.

1. Parques interurbanos: parque Polvoranca y Bosque Sur.

Se trata de áreas que cuentan con alta densidad del vector y del reservorio, principalmente de liebre en el primero y de liebre y conejo en el segundo. Se encuentran cercanos al borde urbano y son muy frecuentados por la población.

En el parque Polvoranca se ha actuado sobre la red de pluviales, tanto de las conducciones enterradas y sus registros, como de las tajeas. Se ha procedido a la limpieza, al sellado de los tubos de recogida de pluviales y al tratamiento insecticida (figura 11) con productos piretroides de algunos puntos de la red.

En Bosque Sur las actuaciones principales han sido la eliminación de los vivares existentes, el sellado de registros eléctricos, el desbrozado y eliminación de vegetación excesiva, la retirada de restos vegetales y materia orgánica situada en la base de matorrales y muros y la aplicación de insecticidas en el límite con el borde urbano (figura 12).

2. Taludes y márgenes de las principales vías de comunicación, tanto de carretera como de ferrocarril.

El principal problema de estas áreas, en las que se encuentran altas densidades del vector, se debe

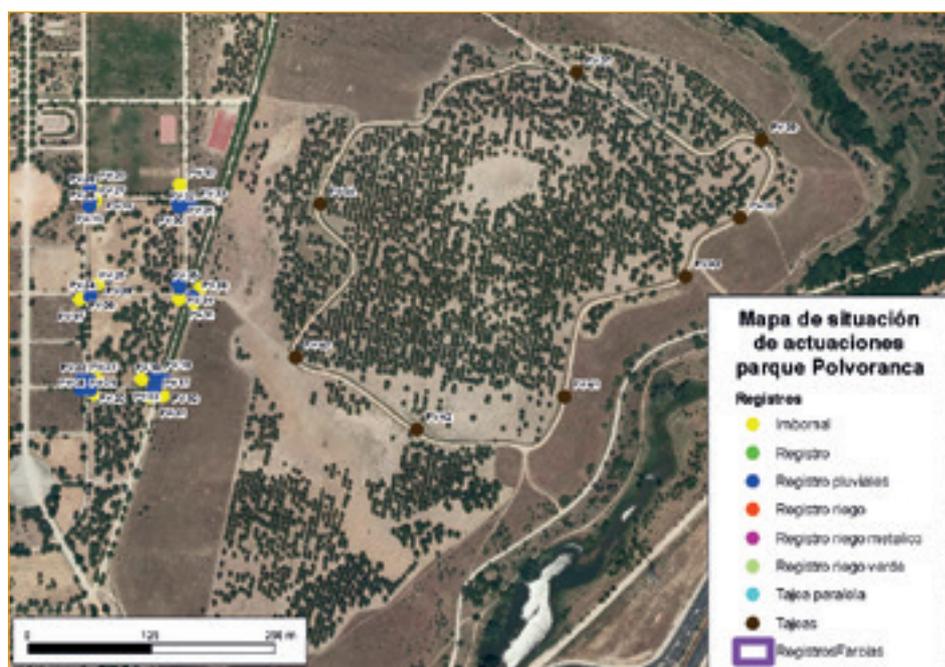


Figura 11. Actuaciones ambientales contra el vector en parque Polvoranca.

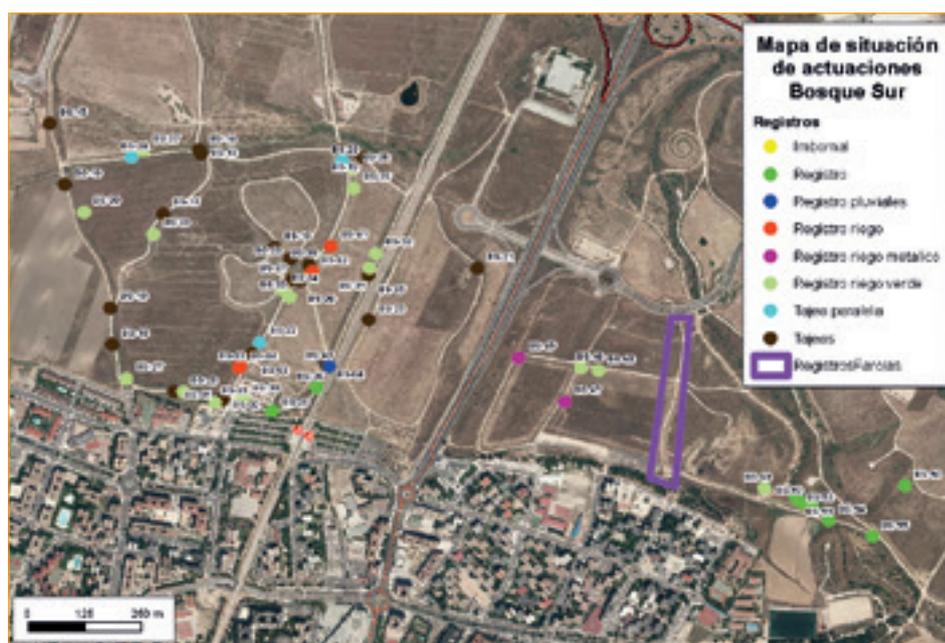


Figura 12. Actuaciones ambientales contra el vector en Bosque Sur.

a la presencia de conejos que aprovechan los taludes y márgenes para construir sus vivares.

La actuación en estas áreas es de gran interés estratégico. En ocasiones estas zonas se encuentran cercanas a las viviendas y tienen una influencia directa en la población y, en otras, aunque más alejadas, constituyen una fuente de flebotomos y de regeneración del reservorio.

Las actuaciones incluyen el desbrozado y eliminación de la vegetación, el cerramiento de los vivares y la aplicación puntual de insecticidas para reducir las densidades. Se ha actuado de forma más intensa en el trazado de la M-50 entre el parque del Arroyo

Culebro y Bosque Sur, donde existe abundancia de conejo y de vivares (figura 13).

3. Áreas urbanas periféricas y del interior

El flebotomo encuentra en el interior urbano hábitats en los que dispone de condiciones similares a las naturales, que pueden ser idóneas para la cría y el refugio de los adultos y que proporcionan fuentes de alimentación para las hembras, por la existencia de gatos.

En estas áreas ha sido difícil identificar los puntos de cría del flebotomo, aunque parece que los sóta-



Figura 13. Actuaciones ambientales contra el vector en sistema viario.

nos sanitarios de algunas edificaciones, los centros educativos fundamentalmente y áreas vegetadas y con cúmulos de materia orgánica en contacto con muros de estos centros, son los lugares más significativos (figura 14).

Las actuaciones se han centrado en el desbrozado y la retirada de restos orgánicos en parques y jardines, la limpieza del alcantarillado, la realización de labores de desratización y de control y la eliminación de las colonias de gatos. Se han aplicado también insecticidas piretroides de forma puntual en algunos parques y en el alcantarillado.

La eliminación de las colonias de gatos ha sido

particularmente problemática por cuestiones relacionadas con la protección de los animales, por lo que finalmente, se ha optado por poner en marcha un programa de control sanitario de estas colonias.

Se ha propuesto además el cierre o colocación de mallas adecuadas en las rejillas y tubos de ventilación de sótanos sanitarios, en particular en los centros más afectados.

Instituciones implicadas en el control

La aplicación de las medidas de control es una labor compleja, no solo por la dificultad que entra-



Figura 14. Áreas de actuación prioritaria contra el vector en el interior urbano.

ña definir las actuaciones, que requiere un conocimiento muy exhaustivo del vector en una zona tan amplia, sino también por el número de instituciones y agentes, tanto públicos como privados, que las realizan.

Se describen a continuación las actuaciones que realizan algunos de los principales agentes implicados. Se han diferenciado los siguientes espacios de actuación: vías de comunicación, parques interurbanos y otros espacios municipales.

En el control realizado en las **vías de comunicación** hay tres entidades implicadas: ADIF (Administrador de Infraestructuras Ferroviarias), encargado del mantenimiento del trazado de las dos líneas existentes del cercanías, el Ministerio de Fomento, en el caso de las vías de competencia estatal (M-50 y R-5) y la Dirección General de Carreteras de la Comunidad de Madrid, en el resto de vías principales.

Las actuaciones de estas entidades incluyen el desbrozado de las áreas de su competencia, la eliminación de vegetación en algunos puntos, el cierre de vivares, en particular en áreas cercanas a las viviendas, y la desinsectación mediante nebulización con piretroides.

Los **principales parques** existentes en el área, el parque Polvoranca y Bosque Sur, dependen de la Dirección General del Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid, siendo la Dirección General de Agricultura y Ganadería de la encargada de la coordinación de las actuaciones medioambientales, incluyendo las de control vectorial.

Las medidas llevadas a cabo incluyen el desbrozado general de estas áreas, la eliminación de vegetación, el cierre y sellado de pozos y registros, la limpieza de tajeas, el cierre de vivares y la aplicación de insecticidas piretroides mediante nebulización y pulverización.

En el **resto de los espacios** actúan los ayuntamientos, en aquellos que son de competencia municipal, u otras instancias como la Confederación Hidrográfica del Tajo, el Canal de Isabel II y otros, en los de titularidad privada.

La Confederación Hidrográfica se ha encargado de la limpieza y mantenimiento del cauce del Arroyo Culebro que drena este espacio, que servía de refugio a la liebre y, sobre todo al conejo.

Por su parte, los ayuntamientos realizan actuaciones variadas que incluyen el desbrozado y eliminación de vegetación, enfoscado de grietas en muros, limpieza y sellado de registros, cierre de vivares, control del estado de solares y espacios urbanos y aplicación de insecticidas piretroides en algunas áreas.

Finalmente, se establecen recomendaciones dirigidas a las comunidades de vecinos para que mantengan, tanto las áreas ajardinadas como los solares, en condiciones que dificulten el asentamiento y proliferación del vector.

Evaluación de las actuaciones de control

La evaluación de la efectividad de los tratamientos es una etapa fundamental para orientar las actuaciones de control. Se ha realizado a través del seguimiento de las trampas adhesivas empleadas en la vigilancia y mediante muestreos específicos.

Se ha encontrado gran dificultad para valorar los resultados de ese seguimiento, debido no solo a las limitaciones del muestreo con trampas adhesivas, sino probablemente a cuestiones ligadas a la biología del vector.

Las poblaciones de flebotomo se encuentran en diferentes estadios y la acción del insecticida sobre las fases larvarias es inexistente o muy limitada.

Asimismo, el nivel de distribución y presencia del vector en la zona del brote, con áreas muy amplias en las que se observan densidades muy importantes y un número y tipología muy elevado de refugios y áreas potenciales de cría, puede enmascarar el resultado de las actuaciones por la llegada del vector desde áreas no tratadas.

Se describen a continuación algunos de los resultados obtenidos. En general, se ha encontrado una mayor efectividad en las medidas de carácter ambiental respecto a las de desinsectación, cuyos efectos han sido en ocasiones contradictorios.

Los tratamientos en los que se han aplicado medidas de carácter ambiental apoyadas o no con aplicación complementaria de insecticidas parecen conducir a una reducción del vector

Tras las actuaciones realizadas en parque Polvoranca se observa un descenso en la densidad de *Phlebotomus perniciosus*. Se han realizado tanto medidas de carácter ambiental (desbrozado, cierre de tubos de pluviales, realizado a finales de 2013, y limpieza de tajeas, fundamentalmente), como de la aplicación de piretroides.

En el gráfico 2 se comparan las capturas de flebotomos obtenidos en 2013 y 2014.

Se observa un descenso importante para el conjunto de las trampas ubicadas en este punto y en concreto en uno de los registros, registro N en el gráfico, en el que tradicionalmente se obtenían mayores densidades.

El papel de los tratamientos de desinsectación muestra un efecto limitado en el tiempo y un comportamiento contradictorio

1. Efecto limitado en el tiempo del uso de insecticidas

En 2012 se aplicaron en varios registros de la red de pluviales del parque Polvoranca tratamientos de desinsectación a partir del mes de agosto, que comenzaron con la termonebulización puntual con piretroides.

Al comprobar que estos tratamientos puntuales no conseguían los resultados esperados y que las trampas que se disponían para su seguimiento apa-

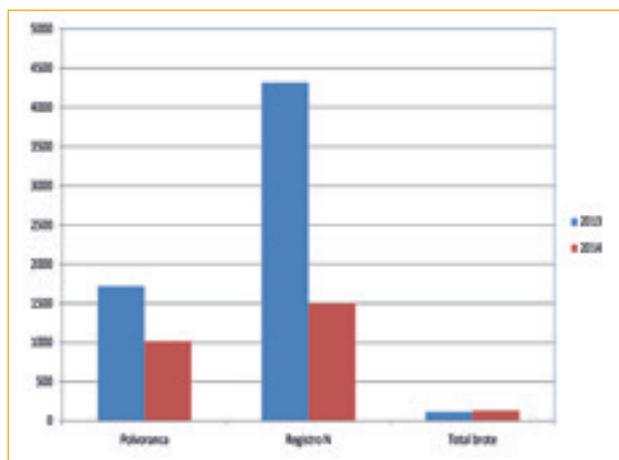


Gráfico 2. Densidad *P. perniciosus* (fleb/m²).

recían cargadas con un mayor número de ejemplares del vector, se planteó la aplicación de un tratamiento más intensivo.

En la primera semana de septiembre, durante 7 días, se realizó una aplicación diaria y se observó un descenso significativo de la actividad en los registros tratados, aunque limitado en el tiempo, ya que la actividad se recuperaba pasados unos días tras el tratamiento.

En el gráfico 3, de densidad de *P. perniciosus* en el parque Polvoranca, se puede observar el descenso producido en la primera quincena de septiembre cuando se realizó el tratamiento intensivo.

Es preciso destacar que la primera quincena de septiembre es el momento en el que mayor densidad se detecta del vector y que las condiciones climáticas fueron las habituales en esta época del año.

2. Aparición de repelencia y efecto desalojo

Se ha observado en ocasiones un incremento de los flebotomos capturados tras el tratamiento, que

parece venir asociado a un aumento de la actividad del vector y posiblemente a un efecto de desalojo propiciada por el insecticida.

Este es el caso del tratamiento realizado mediante nebulización con piretroides en el parque de la Alhóndiga en la segunda quincena de agosto, que vino asociado con un importante aumento de la actividad del vector.

El aumento en la densidad es tan importante que difícilmente se puede explicar por la evolución normal del ciclo del vector (gráfico 4).

Se produce además un incremento muy significativo en el número de hembras y de machos inmaduros que se recogen en las trampas, lo que posiblemente también se encuentre relacionado.

Búsqueda de nuevas alternativas

Aunque están pendientes de conocerse los resultados de algunas de las medidas ambientales realizadas en la cercanía y en el interior de las zonas urbanas, la experiencia adquirida hasta ahora muestra que, en la lucha contra el vector, las medidas ambientales son las que han dado mejores resultados y las que es preciso fomentar frente a los programas de desinsectación.

Estas actuaciones ambientales ven limitados sus efectos por la gran dispersión del vector sobre el territorio, el enorme número y diversidad de lugares en los que cría y encuentra refugio, y también por su ejecución, que en ocasiones no se realiza en el momento más adecuado o se lleva a cabo de forma parcial.

Para mejorar, por consiguiente, nuestra capacidad de respuesta, es necesario no solo definir con mayor precisión las medidas ambientales (y para ello es necesario un mayor conocimiento de la biología del vector en la zona del brote y su interacción con el reservorio), sino también mejorar su ejecución.

Respecto al uso de insecticidas, se requiere profundizar en el conocimiento de su eficacia testando los efectos de repelencia encontrados, tanto en la-

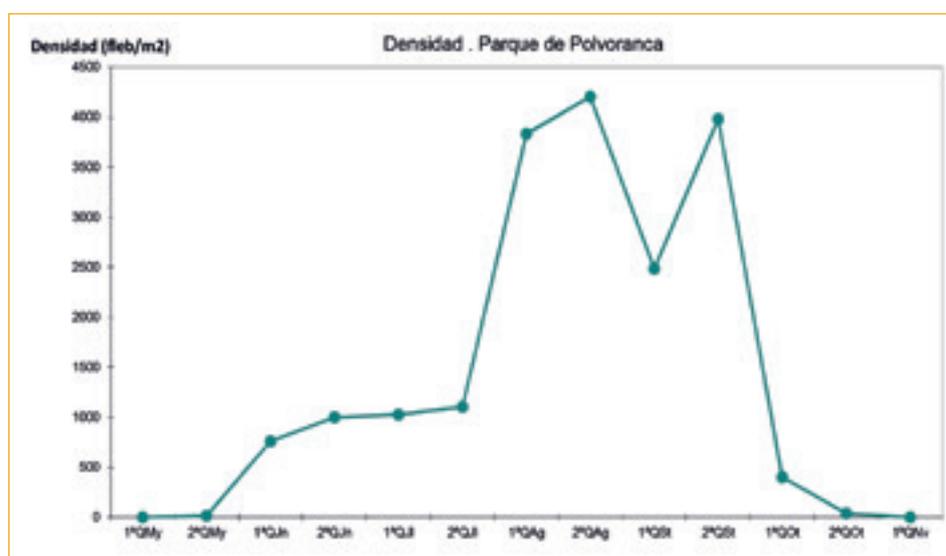


Gráfico 3. Densidad parque Polvoranca (fleb/m²).

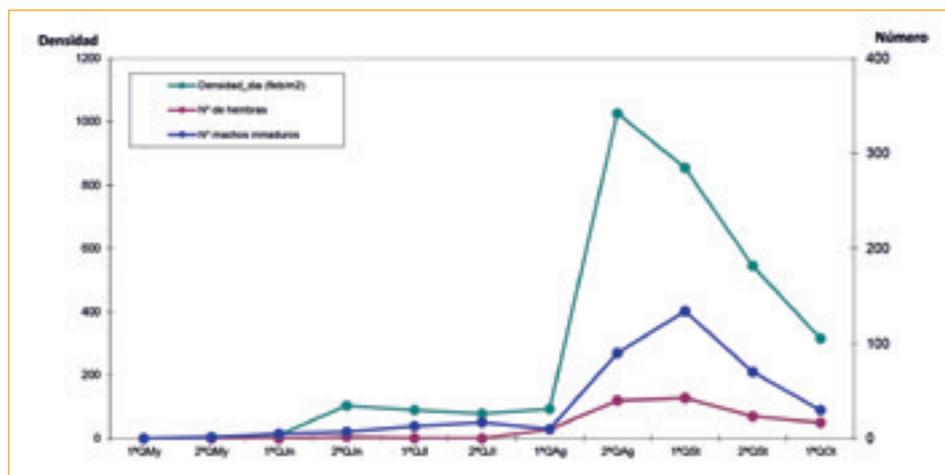


Gráfico 4.

boratorio como en campo, mediante ensayos y procedimientos estandarizados. Así mismo es preciso incidir en la búsqueda de nuevas formas de aplicación que aumenten su eficacia y minimicen los riesgos derivados de su uso.

En estos momentos se encuentra en fase de ensayo la utilización de insecticidas con cebo atrayente, que es uno de los enfoques aplicados en los últimos años en la lucha contra la leishmaniasis^{24,26} y que se espera aplicar próximamente en campo.

Este enfoque y otros como el uso de insecticidas sistémicos²⁷⁻²⁹ en el reservorio dirigido a las fases larvianas y adultas y el uso de feromonas, pueden ser elementos importantes para mejorar la eficacia de los tratamientos insecticidas en el futuro.

Conclusiones

La compleja biología del flebotomo y de sus poblaciones, con presencia continua de individuos en diferentes estadios y la localización dispersa y poco accesible de sus lugares de cría, donde permanecen escondidas sus fases larvianas, hacen muy difícil su control.

A pesar de estas dificultades, la lucha contra el vector es un elemento importante en la gestión y debe realizarse de forma complementaria e integrada al control del reservorio¹⁻¹⁰.

Debe integrar diferentes tipos de medidas, ha-

ciendo especial énfasis en el diseño y ejecución de actuaciones ambientales y en la participación y colaboración de los diferentes agentes implicados. Es preciso incidir en los siguientes puntos:

- **Profundizar en las actuaciones ambientales de modificación del hábitat** como **elemento fundamental de lucha contra el vector**, privilegiando la mejora del conocimiento de la distribución del vector y la identificación de sus lugares de cría y reposo, de tal forma que se puedan definir actuaciones lo más precisas posibles dirigidas a modificar y destruir, cuando esto sea posible, los hábitats apropiados para el flebotomo.
- **Establecer pautas de aplicación de insecticidas con carácter selectivo** mediante la utilización de cebos atrayentes e insecticidas con efecto residual
- **Incrementar la formación y sensibilización de instituciones y de la población general** e impulsar la aplicación de buenas prácticas que eviten la presencia del vector. Estas prácticas harán hincapié en el control del reservorio, tanto silvestre como doméstico, así como en el mantenimiento adecuado de las instalaciones (evitando el crecimiento incontrolado de la vegetación, la acumulación de materia orgánica y de restos vegetales y la existencia de grietas en muros y pavimentos y otros puntos que puedan servir de cría para el vector).

AGRADECIMIENTOS

A todos los profesionales de sanidad ambiental de los servicios territoriales de salud pública de las Áreas IX y X, y de los servicios centrales de la Subdirección General de Sanidad Ambiental de la Dirección General de Salud Pública de la Comunidad de Madrid.

A la Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid y a la empresa TRAGSATEC (Tecnologías y Servicios Agrarios), que junto con los ayuntamientos implicados: Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid, han llevado a cabo la coordinación de las actuaciones ambientales en este brote.

Agradecemos especialmente la labor de los técnicos municipales implicados en las tareas de control del vector: Gregorio Pintor, Luis Cepa, Jesús Tenaguillo, Francisco Salvador Jiménez, Cesáreo López y Jose Luis Cano de Leganés, Elisa Marco, Ana Alegret y Almudena Vargas de Fuenlabrada, M^a Juana Pablos de Getafe, así como Alfonso Rubio del Servicio de Salud Pública del Área X.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Lane RP. The contribution of sandfly control to leishmaniasis Control. Ann. Soc. Belg Méd. Trop., 1991(Suppl.1), 65-74
- ² Alexander B, Maroli M. Control of phlebotomines sandflies. Medical and Veterinary Entomology. 2003, 17, 1-18
- ³ Maroli, M., & Khoury, C. (2004). [Prevention and control of leishmaniasis vectors: current approaches]. *Parassitologia*, 46(1-2), 211-215.
- ⁴ Kishore K, Kumar S, Kesari DS, Dinesh AJ, Kumar PDas Bhattacharya SK. Vector control in leishmaniasis, Indian J. Med. Res. 123, 2006: 467-472
- ⁵ Umakant S, Singh S. Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control. J Vector Borne Dis. 45, 2008, 255-272
- ⁶ Amóra SS, Bevilaqua CM, Feijó FM, D Alves N, do V Maciel M. Control of Phlebotomine (Diptera: Psychodidae) Leishmaniasis Vectors. Neotrop Entomol. 2009. 38(3): 303-10
- ⁷ Quinnell RJ, Courtenay O. Transmission, reservoir, hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. Parasitology 2009, 136, 1915-1934.
- ⁸ Claborn DM. The biology and control of leishmaniasis vectors. J. Glob. Infect. Dis. 2010 2(2): 127-134
- ⁹ Warburg A, Faiman R. Research priorities for the control of phlebotomine sand flies. Journal of Vector Ecology. Vol. 36, Suppl 1. 2011: 10-16.
- ¹⁰ Stockdale L, Newton R. A review of preventative methods against human leishmaniasis infection. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2013, 7, 6, 1-15.
- ¹¹ Rioux JA, Killick-Kendrick R, Leaney AJ, Turner DP, Bailly M, Young CJ. Ecology of leishmaniasis in the south of France. 12. Horizontal dispersion of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. Preliminary experiments. Ann Parasitol Hum Comp. 1979; 54(6): 673-82
- ¹² Killick-Kendrick R, Rioux JA, Bailly M, Guy MW, Wilkes TJ, Guy FM, Davidson I, Knechtli R, Ward RD, Guilvard E. Ecology of leishmaniasis in the south of France. 20. Dispersal of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 as factor in the spread of visceral leishmaniasis in the Cévennes. Ann Parasitol Hum Comp. 1984; 59(6):555-72
- ¹³ Alexander B, Ferro C, Young DG, Morales A, Tesh RB. Ecology of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a focus of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in northeastern Colombia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 1992, 87(3):387-95
- ¹⁴ Casanova C, Andrighetti MT, Sampaio SM, Marcoris ML, Colla-Jacques FE, Prado AP. Larval breeding sites of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in visceral leishmaniasis endemic urban areas in Southeastern Brazil. PLoS Negl. Trop. Dis. 2013; 7(9): e2443
- ¹⁵ Feliciangeli MD. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. Med Vet Entomol. 2004. 18(1): 71-80
- ¹⁶ Moncaz A, Faiman R, Kirstein O, Warburg A. Breeding sites of *Phlebotomus sergenti*, the sand fly vector of cutaneous leishmaniasis in the Judean Desert. PLoS neglected tropical diseases. 2012 6(7): e1725.
- ¹⁷ Lisi, O, D'Urso V, Vaccalluzzo V, Bongiorno G, Khoury C, Severini F, Di Muccio T, Gramiccia M, Gradoni L, Maroli M. Persistence of phlebotomine *Leishmania* vectors in urban sites of Catania (Sicily, Italy). Parasites & Vectors 2014, 7:560
- ¹⁸ Kumar V, Kesari SK, Sinha NK, Palit A, Ranjan A, Kishore K, Saran R, Kar SK. Field trial of an ecological approach for the control of *Phlebotomus argentipes* using mud & lime plaster. Indian J Med Res. 1995, 101: 154-6
- ¹⁹ Robert, LL, Perich MJ. Phlebotomine sand fly (Diptera: Psychodidae) control using a residual pyrethroid insecticide. J Am Mosq Control Assoc. 1995). 11(2 Pt 1), 195-9
- ²⁰ Joshi AB, Das ML, Akhter S, Chowdhury R, Mondal, D, Kumar V, Pradeep D, Kroeger A, Boelaert M, Petzold M. Chemical and environmental vector control as a contribution to the elimination of visceral leishmaniasis on the Indian subcontinent: cluster randomized controlled trials in Bangladesh, India and Nepal. BMC Medicine, 2009: 7- 54.
- ²¹ Britch SC, Linthicum KJ, Walker TW, Farroq M, Gordon SW, Clark, JW, Ngere F, Ngonga D, Chepchieng C. Evaluation of ULV applications against old world sand fly (Diptera: Psychodidae) species in equatorial Kenya. J. Med. Entomol. 2011. 48(6): 1145-1159
- ²² Coleman RE, Burkett DA, Sherwood V, Caci J, Dennett JA, Jennings BT, Cushing R, Ploch J, Hopkins G, Putnam JL. Impact of phlebotomine sand flies on United State Military Operations at Tallil Air Base, Iraq: 6. Evaluation of insecticides for the control of sand flies. J. Me. Entomol. 2011. 48(3): 584-599
- ²³ Faraj C, Adlaoui EB, Ouabi S, Elkholi M. Elrhazi M, Laqrra L, Ameer B. Field evaluation of alphacypermethrin in indoor residual spraying for leishmaniasis control in an endemic area, northern Morocco. Parasites & Vectors. 2013, 6:354, 1-7
- ²⁴ Hamilton JGC. Sandfly pheromones. Their biology and potential for use in control programs. Parasite (Paris, France), (2008a). 15(3): 252-256
- ²⁵ Mascari TM, Foil LD. Laboratory evaluation of insecticide-treated sugar baits for control of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). J Am Mosq Control Assoc. 2010, 26(4): 398-402.
- ²⁶ Junnila, A., Müller, G. C., & Schlein, Y. Attraction of *Phlebotomus papatasi* to common fruit in the field. Journal of Vector Ecology, 2011. 36 Suppl 1:206-211.
- ²⁷ Mascari, T. M., Clark, J., Gordon, S., Mitchell, M. A., Rowton, E. D., Stout, R., & Foil, L. D. Oral treatment of rodents with insecticides for control of sand flies (Diptera: Psychodidae) and the fluorescent tracer technique (FTT) as a tool to evaluate potential sand fly control methods. Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology. 2011. 36 Suppl 1, S132-137. 23.
- ²⁸ Mascari TM, Hanafi HA, Jackson RE, Ouahabi S, Ameer B, Faraj C, Obenauer PJ, Diclaro JW, Foil LD. Ecological and Control Techniques for Sand Flies (Diptera: Psychodidae) Associated with Rodent Reservoirs of Leishmaniasis. PLoS Negl Trop Dis. 2013 7(9): e2434
- ²⁹ Mascari, T. M., Stout, R. W., Clark, J. W., Gordon, S. W., Bast, J. D., & Foil, L. D.). Insecticide-treated rodent baits for sand fly control. Pesticide Biochemistry and Physiology. 2013. 106(3): 113-117
- ³⁰ Tello, A., González-Mora, D., Outerelo, R., Iriso, A. & Vázquez, M.A. Los flebotomos del brote de leishmaniasis en el suroeste de la Comunidad de Madrid (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Boletín Real Sociedad Española de Historia Natural, Sección Biol. 2015. 109: 57-64.

DINÁMICA ESTACIONAL, PREFERENCIAS ALIMENTARIAS Y NIVELES DE INFECCIÓN POR *LEISHMANIA INFANTUM* EN *PHLEBOTOMUS PERNICIOSUS* CAPTURADOS EN BOSQUE SUR (2012-2013)

Maribel Jiménez, Estela González, Sonia Hernández, Inés Martín-Martín y Ricardo Molina

Unidad de Entomología Médica. Servicio de Parasitología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Resumen

Durante el periodo de actividad de los flebotomos - mayo a octubre - de 2012 y 2013 se realizaron estudios entomológicos en cuatro estaciones de muestreo situadas en Bosque Sur, colindantes al área urbana. Cada mes, durante dos días consecutivos, se colocaron en cada estación de muestreo 20 trampas adhesivas (20 x 20 cm) y 2 trampas de luz tipo CDC. El objetivo del trabajo fue conocer la fenología de *Phlebotomus perniciosus* en el foco de leishmaniasis y estudiar su relación con los niveles de infección por *Leishmania infantum* en las hembras capturadas. Además, se estudió la fuente de la sangre ingerida por las hembras, así como la presencia de ADN de *L. infantum* mediante técnicas moleculares. En los dos años de estudio se capturaron un total de 29.729 flebotomos, 12.271 flebotomos con trampas CDC y 17.458 con trampas adhesivas. La identificación taxonómica sitúa a *P. perniciosus* como la especie mayoritaria en el foco, con un promedio de densidad de 159,01/m² en 2012 y de 146,13/m² en 2013. La disección de un total de 736 hembras en 2012 y de 864 en 2013 dio como resultado la presencia de hembras infectadas por *L. infantum* en todas las estaciones. El estudio de las preferencias alimentarias, mediante amplificación de un fragmento de un tamaño de 359 pb del gen citocromo b y posterior secuenciación, ha permitido identificar a la liebre y al conejo como las principales fuentes de alimentación de los flebo-

tomos. Estos datos aportan una importante información epidemiológica en relación a la transmisión de *L. infantum* en el foco.

Introducción

El estudio de los vectores implicados en los focos de leishmaniasis es fundamental para un mejor conocimiento del papel que juegan en la transmisión de *Leishmania* y el desarrollo y ejecución de programas de control eficientes¹. En la Comunidad de Madrid se ha podido demostrar que solo dos especies de flebotomos, de las siete descritas en esta región – *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911 y *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 – pueden ser vectores de *Leishmania infantum*, siendo *P. perniciosus* su principal vector^{2,3}.

En un estudio piloto realizado en 2011, a lo largo del periodo de actividad teórica de los flebotomos, de mayo a octubre, se colocaron trampas adhesivas en diferentes estaciones de muestreo del municipio de Fuenlabrada, apareciendo *P. perniciosus* como el único vector potencial en la zona objeto de estudio, situándose en 45,3 flebotomos/m² la densidad para esta especie⁴. La presencia de *L. infantum* en un número importante de las hembras capturadas (58'5%), así como la presencia de sangre de liebre en los tubos digestivos de 6 de las 14 hembras analizadas, aportaron una información relevante⁵. A partir de estos datos preliminares, se

planteó la ejecución de un plan de muestreo anual durante dos años consecutivos (2012 y 2013) en las zonas de riesgo identificadas, especialmente en aquellas con presencia de casos humanos. Se realizó con trampas adhesivas y trampas luminosas con un triple objetivo: a) Identificar y estimar las densidades del vector/vectores potenciales a partir de las capturas con trampas adhesivas y descripción de la dinámica estacional de los flebotomos en la zona de estudio, b) determinar los niveles de infección por *L. infantum* en las hembras capturadas mediante disección y posterior aislamiento de flagelados y c) realizar estudios moleculares con los especímenes recolectados con trampas de luz para conocer las preferencias alimentarias de las hembras capturadas con sangre en sus estómagos, así como para la detección de ADN de *L. infantum* en los flebotomos capturados.

Material y métodos

Área de estudio, capturas de flebotomos y clasificación taxonómica

Se seleccionaron cuatro estaciones de muestreo de flebotomos (en cada una de ellas se eligieron dos puntos de muestreo para las CDC), tres en Fuenlabrada denominadas FUE-JIC (JIC1, JIC2), FUE-BOS (BOS1, BOS2) y FUE-ATE (ATE1, ATE2) y una en Leganés LEG-POL (POL1, POL2). Tres de estas cuatro estaciones se encuentran adyacentes al área urbana y próximas al parque periurbano Bosque Sur y la cuarta dentro del parque (Figura 1 y 2). La altitud de estas estaciones oscila entre 655 y 691 m.

Los flebotomos fueron capturados en las cuatro estaciones durante el periodo de actividad, de mayo a octubre de 2012 y 2013 respectivamente. Todos los meses y durante dos noches consecutivas se colocaron en cada estación de muestreo 20

trampas adhesivas (20 x 20 cm) y 2 trampas de luz tipo CDC, estas últimas reemplazadas a las 24 horas (figura 2).

Los flebotomos capturados con las trampas adhesivas se separaron utilizando un pincel y se colocaron en alcohol de 96%, posteriormente se conservaron en alcohol al 70% a 4 °C hasta que fueron identificados taxonómicamente. La cabeza y la genitalia fueron aclaradas con Marc André y posteriormente montadas en líquido de Hoyer (figura 3). Una parte de las hembras capturadas con trampas CDC fueron procesadas directamente mediante disección y el resto fue guardado en etanol al 70% a 4 °C para los estudios moleculares.

Disección de hembras de *P. perniciosus* capturadas con trampas CDC

Las hembras de flebotomos se anestesiaron con dióxido de carbono y se depositaron en una placa de Petri que contenía tampón fosfato salino pH= 7,4 al que se añadió una gota de detergente líquido, lo que permite disolver las ceras presentes en la cutícula del insecto, facilitando su manipulación. Las disecciones de hembras de flebotomos se realizaron con ayuda de un microscopio estereoscópico y agujas entomológicas, permitiendo por un lado la separación de la genitalia y la cabeza y, por otro lado, la extracción de los tubos digestivos que fueron examinados bajo un microscopio óptico en busca de flagelados en los mismos. El examen conjunto de la cabeza y genitalia permitió, además, su clasificación taxonómica.

Estudios moleculares

Extracción de ADN de flebotomos y *Leishmania*

A cada una de las hembras de flebotomos conservadas en etanol al 70% y a 4 °C, se le eliminaron las

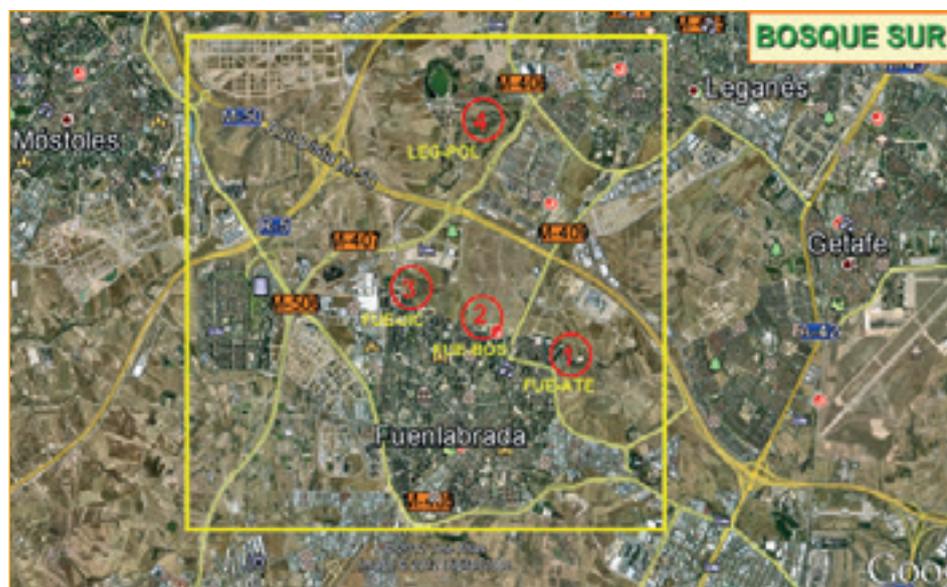


Figura 1. Área de estudio y estaciones de muestreo.

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII.



Figura 2. Estaciones de muestreo.

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII.

patas y alas y se le separó la cabeza y la genitalia, con la ayuda de agujas entomológicas y un microscopio estereoscópico. Las genitales fueron aclaradas con Marc André y posteriormente montadas en líquido de Hoyer para la identificación morfológica. El tórax y el abdomen se utilizaron para la extracción de ADN mediante el kit "DNeasy Blood & Tissue kit" (Qia-gen®), siguiendo el protocolo de la casa comercial.

Estudio de las preferencias alimentarias de las hembras de *Phlebotomus perniciosus* capturadas y detección de *Leishmania infantum*

El análisis de la sangre ingerida por las hembras capturadas se realizó mediante amplificación de un fragmento de 359 pb de la región conservada del gen *cytb* presente en el ADN mitocondrial de vertebrados, siguiendo los protocolos descritos pre-

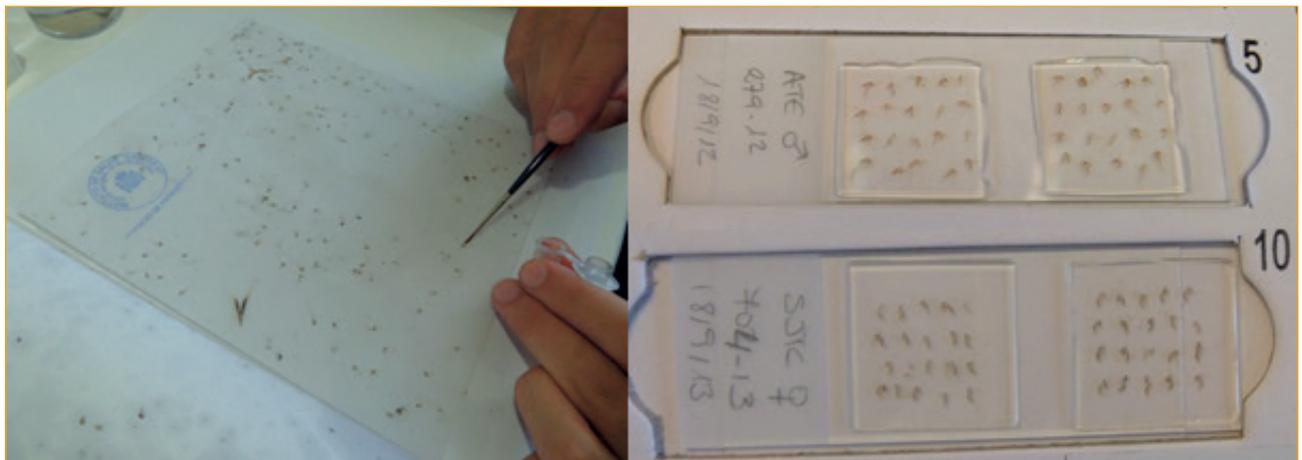


Figura 3. Separación de flebotomos y montaje.

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII.

viamente⁵. Los productos de PCR obtenidos fueron purificados utilizando el kit "QIAquick Gel Extraction Kit" (Qiagen®) y posteriormente secuenciados con el secuenciador ABI PRISM 3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems®), EEUU. Las secuencias fueron analizadas mediante los programas bioinformáticos DNASTar (Lasergen®, Madison, WI) y ChromasPro (McCarthy, Queensland, Australia) las secuencias nucleotídicas se analizaron con el programa DNASTAR (Lasergen v7.1®, Madison, WI). El estudio de las homologías con las secuencias en las bases de datos de secuencias GenBank se realizó con el software BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Para la detección de *L. infantum* en *P. perniciosus*, el ADN obtenido de las hembras de estos flebotomos fue utilizado inicialmente en un protocolo de PCR basado en la amplificación de un fragmento de 120 pb correspondiente con una región conservada del ADNk, siguiendo los protocolos descritos previamente, con algunas modificaciones⁶. Las muestras positivas fueron posteriormente analizadas siguiendo otro protocolo de PCR específico para *L. infantum* basado en la amplificación de un fragmento de 702 pb, correspondiente al gen *cpb* de *L. infantum*^{7,8}.

Además, con el fin de caracterizar los aislados de *Leishmania*, se realizaron las amplificaciones de los fragmentos correspondientes a las regiones transcritas internas, ITS1 (319 pb) e ITS2 (740 pb) de los genes ribosomales, seguidas de la secuenciación de las mismas, utilizando los protocolos descritos previamente^{9,10}.

Todas las reacciones de PCR correspondientes a los diferentes protocolos se llevaron a cabo en un termociclador GeneAmp® PCR system 2700 (Applied Biosystems, Foster, CA). En todas las reacciones de PCR se incluyeron controles negativos (agua destilada), blancos de extracción de ADN y

controles positivos. Por otro lado, todas las *master mix* utilizadas en los diferentes protocolos de PCR se realizaron en una cabina de flujo laminar libre de ADN y las muestras problema se añadieron en otra cabina utilizada para este fin.

Resultados

En los dos años de estudio se capturaron un total de 29.729 flebotomos, 12.271 flebotomos con trampas CDC y 17.458 con trampas adhesivas. Durante el periodo de actividad de los flebotomos correspondiente a 2012 se identificaron 3 especies de flebotomos en el foco: *P. perniciosus* (68,57%), *P. sergenti* (0,02%) y *Sergentomyia minuta* (31,41%). Estos resultados fueron similares a los correspondientes al periodo de actividad de 2013, en el que se identificaron: *P. perniciosus* (64,35%), *P. papatasi* (0,01%) y *S. minuta* (35,64%)

Por lo tanto, la identificación taxonómica sitúa a *P. perniciosus* como la especie mayoritaria en el foco, con un promedio de densidad de 159,01/m² en 2012 y de 146,13/m² en 2013, calculada a partir de las capturas realizadas con las trampas adhesivas a lo largo del periodo de actividad correspondiente a los dos años.

En cuanto a la dinámica estacional de *P. perniciosus*, en base a las capturas realizadas con trampas adhesivas (figura 4), se puede observar que en 2012 la abundancia de *P. perniciosus* sigue un patrón difásico con dos picos mayoritarios en junio y agosto respectivamente. Por el contrario, el mismo periodo de 2013 no puede considerarse difásico, situándose la mayor abundancia de *P. perniciosus* en el mes de septiembre, con un gran pico que triplica las densidades encontradas en meses anteriores.

Durante el periodo de transmisión de 2012 y 2013 se realizaron las disecciones de 735 y 864

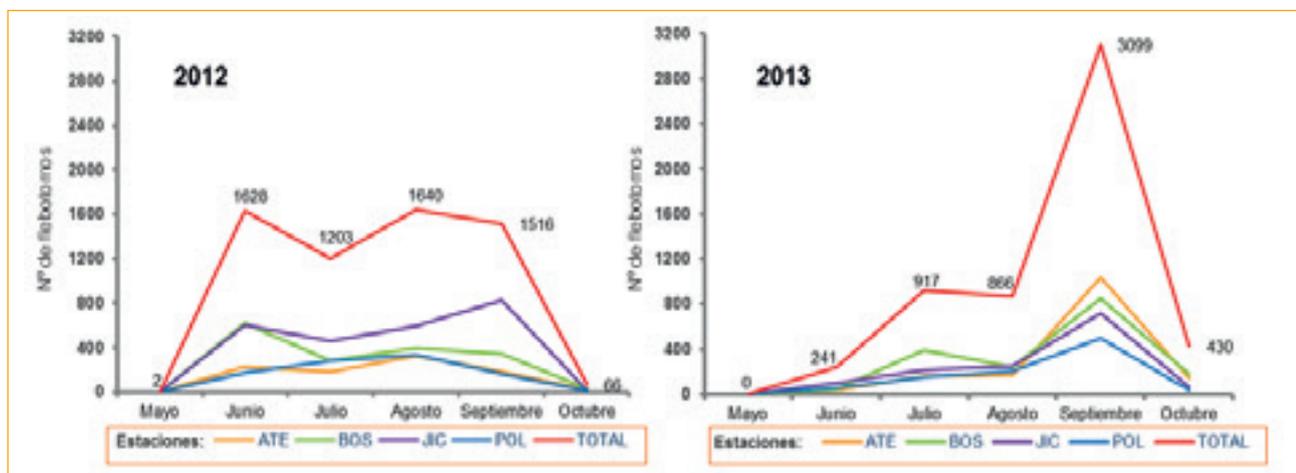


Figura 4. Dinámica estacional de *Phlebotomus perniciosus* durante el periodo de actividad 2012-2013.

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII.

hembras de *P. perniciosus* respectivamente, capturadas mediante trampas CDC, encontrándose 18 hembras infectadas en 2012 (2,45%) y 57 (6,6%) hembras infectadas en 2013 en las cuatro estaciones de muestreo. La evolución de las tasas de infección de las hembras capturadas a lo largo de los meses de transmisión y en cada estación de muestreo se muestra en la figura 5. Un total de 14 (77,8%) aislados de *Leishmania* de 2012 y 44 (77,2%) aislados de 2013 fueron cultivados de manera satisfactoria, lo que permitió el estudio de las secuencias de las regiones amplificadas, ITS1 e ITS2. Todas las secuencias fueron idénticas a las obtenidas en los aislados de *L. infantum* de liebres, conejos y humanos de la zona del brote^{11,12,13}.

El estudio de las preferencias alimentarias y detección de *L. infantum* por métodos moleculares se realizó en un grupo de 139 hembras capturadas con sangre en sus tubos digestivos, de las cuales 71 fueron capturadas en 2012 y 68 en 2013. Los datos obtenidos de las hembras de flebotomos capturadas en 2012 revelan que la fuente de alimentación de las mismas fue mayoritariamente el conejo (n=41, 57,8%) seguida de la liebre (n=28, 39,4%), detectándose ADN de *L. infantum* en 2 (4'9%) flebotomos alimentados con sangre de conejo y en 11 (39'3%) con sangre de liebre. Igualmente, en 2 flebotomos se detectó sangre humana y de perro respectivamente, representando un 1,40% en cada caso, pero no se detectó en ellos ADN de *L. infantum*. Por otro lado, en las 68

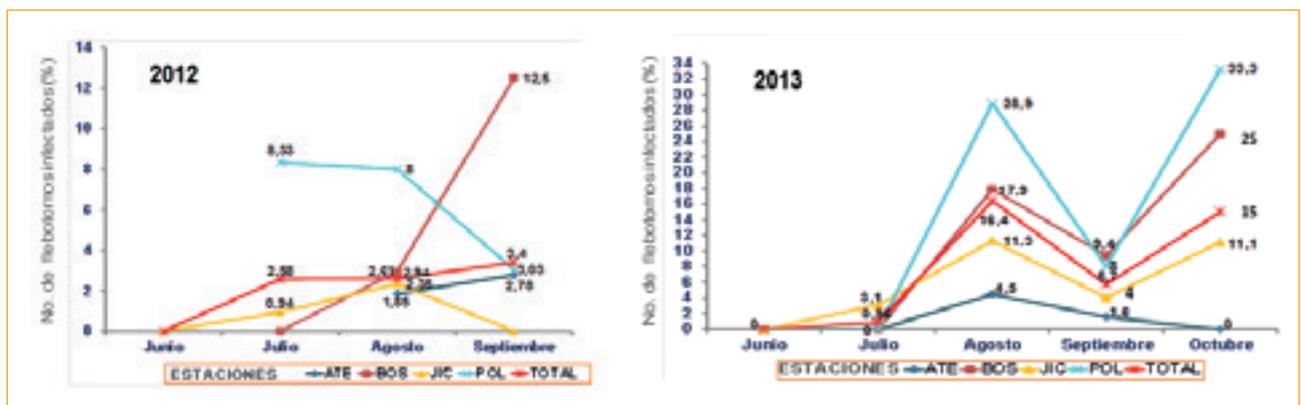


Figura 5. Evolución de las tasas de infección en hembras capturadas en cada estación de muestreo durante el periodo de actividad 2012-2013.

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII.

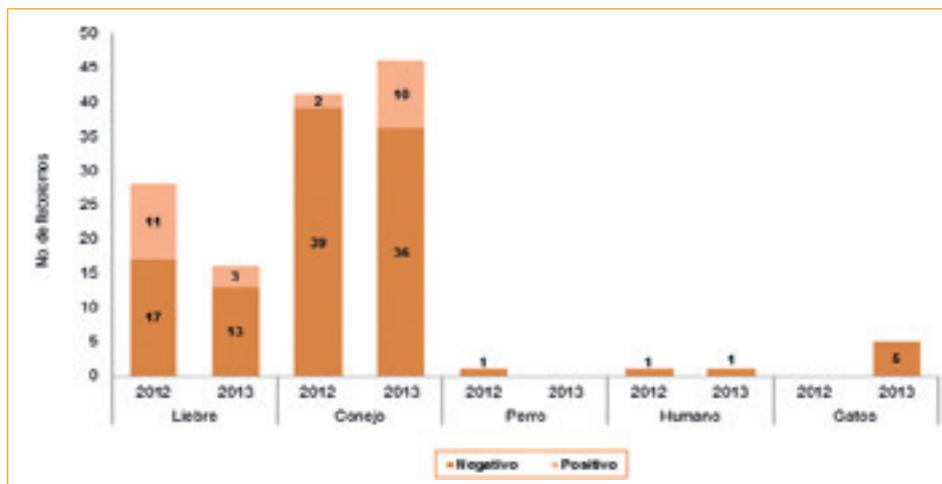


Figura 6. Estudios moleculares en hembras capturadas en 2012-2013: Detección de *Leishmania infantum* y determinación de las preferencias alimentarias. Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII.

hembras de flebotomo procesadas en 2013 se halló sangre de conejo en 46 (67,6%) y de liebre en otras 16 (23,5%). Asimismo se detectó ADN de *L. infantum* en 10 (21,7%) flebotomos alimentados con sangre de conejo y en 3 (18,8%) de liebre. En cinco flebotomos se detectó sangre de gato (7,3%), no detectándose

ADN de *Leishmania* en ninguno de ellos. En otro flebotomo (1,5%) se halló sangre humana y tampoco se detectó ADN de *L. infantum*. Los resultados se muestran en la figura 6. Una parte de los resultados mostrados en este capítulo fueron presentados en el congreso Wordleish V, celebrado en 2013¹⁴.

Conclusiones

- La identificación taxonómica de los flebotomos capturados en el foco demuestra que *P. perniciosus* es el vector mayoritario (66,46 %).
- El periodo de actividad y la densidad de *P. perniciosus* están principalmente regulados por las condiciones climáticas que influyen sobre su ciclo de vida.
- Las tasas de flebotomos infectados son muy altas, situándose en el 2,45% en 2012 y en el 6,6% en 2013.
- Los lepidópteros son una importante fuente de alimentación para los flebotomos de la zona.
- El análisis del origen de la sangre ingerida por las hembras de flebotomo, junto con el hallazgo de hembras infectadas en elevada proporción, confirma una estrecha asociación entre flebotomos, liebres, conejos y humanos en el foco.
- Los datos obtenidos refuerzan el papel que pueden estar jugando los lepidópteros de la zona, especialmente las liebres, en la transmisión de la leishmaniasis.
- En conclusión, los datos presentados aquí representan una importante información epidemiológica relacionada con la expansión de la leishmaniasis humana en el foco, especialmente útil en las actuaciones que se están llevando a cabo en la zona del brote para el control de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ World Health Organization (2010) Control of Leishmaniasis. WHO Technical Report Series no. 949. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22–26 March 2010.
- ² Conesa Gallego E, Romera Lozano E, Martínez Ortega E. Estudio de las poblaciones de flebotomos (Diptera, Psychodidae) de la Comunidad de Madrid (España). *Anales de Biología*. 1999; 22 (Biología animal, 11) (1997): 43–50.
- ³ Gálvez R, Descalzo MA, Miró G, Jiménez MI, Martín O, Dos Santos-Brandao F, Guerrero I, Cubero E, Molina R. Seasonal trends and spatial relations between environmental/meteorological factors and leishmaniasis sand fly vector abundances in Central Spain. *Acta Trop*. 2010; 115: 95-202.
- ⁴ Suárez-Rodríguez B, Isidoro-Fernández B, Santos-Sanz S, Sierra-Moros MJ, Molina-Moreno R, Astray-Mochales J, Amela-Heras C. Situación epidemiológica y de los factores de riesgo de transmisión de *Leishmania infantum* en España. *Rev. Esp. Salud Pública* 2012; 86:555-64.
- ⁵ Jiménez M, González E, Iriso A, Marco E, Alegret A, Fúster F, Molina R. Detection of *Leishmania infantum* and identification of blood meals in *Phlebotomus perniciosus* from a focus of human leishmaniasis in Madrid, Spain. *Parasitol. Res.* 2013; 112:2453-59.
- ⁶ Kobets T, Badalova J, Grekov I, Havelková H, Svobodová M, Lipoldová M. *Leishmania* parasite detection and quantification using PCR-ELISA. *Nature Protocols* 2010; 5:1074-1080.
- ⁷ Hide M, Bañuls A. Species-specific PCR assay for *L. infantum*/*L. donovani* discrimination. *Acta Trop*. 2006; 100: 241-245.
- ⁸ Oshaghi MA, Ravasan NM, Javadian E, Mohebbi M, Hajjarian H, Zare Z, Mohtarami F, Rassi Y. Vector incrimination of sand flies in the most important visceral leishmaniasis focus in Iran. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2009; 81: 572–577.
- ⁹ El Tai NO, Osman OF, El Far M, Presber W, Schönian G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2000; 94: 575-579.
- ¹⁰ Kuhls K, Mauricio IL, Pratlong F, Presber W, Schönian G. Analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences of the *Leishmania donovani* complex. *Microbes Infect.* 2005; 7:1224-34.
- ¹¹ Molina R, Jiménez MI, Cruz I, Iriso A, Martín-Martín I, Sevillano O, Melero S, Bernal J. The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania infantum* in Spain. *Vet. Parasitol.* 2012; 190: 268-271.
- ¹² Jiménez M, González E, Martín-Martín I, Hernández S, Molina R. Could wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) be reservoirs for *Leishmania infantum* in the focus of Madrid, Spain?, *Vet. Parasitol.* 2014; 202: 296–300.
- ¹³ Chicharro C, Llanes-Acevedo IP, García E, Nieto J, Moreno J, Cruz I. Molecular typing of *Leishmania infantum* isolates from a leishmaniasis outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill.* 2013; 18 (30), pii: 20545. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20545>.
- ¹⁴ Jiménez M, González E, Hernández S, Molina R. Seasonal dynamics, rates of infection, and host-feeding preferences of *Phlebotomus perniciosus* in a focus of leishmaniasis in Madrid, Spain. En: Abstracts of Worldleish V (Fifth World Congress on Leishmaniasis, Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil; 2013).

XENODIAGNÓSTICO DE LA LEISHMANIOSIS: IMPLICACIÓN DE LOS LEPÓRIDOS EN EL CICLO SELVÁTICO DE *LEISHMANIA INFANTUM* EN BOSQUE SUR

Ricardo Molina, Estela González, Inés Martín-Martín, Sonia Hernández y Maribel Jiménez

Unidad de Entomología Médica. Servicio de Parasitología. Centro Nacional de Microbiología.
Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Resumen

Se realizaron estudios de xenodiagnóstico en 7 liebres y 10 conejos silvestres, seropositivos frente a *Leishmania infantum* y aparentemente sanos, que habían sido capturados en la zona del brote de leishmaniasis humana del suroeste de la Comunidad de Madrid. Ambos leporidos fueron capaces de infectar a *Phlebotomus perniciosus*, el vector competente en la zona del brote, aunque en diferente proporción: en liebres, la tasa de infección alcanzó en promedio valores del 5,1%, mientras que en conejos fue de 0,94%. Por tanto, estos estudios han confirmado que ambos leporidos estarían jugando un papel destacado, aunque en diferente grado, como reservorios activos del parásito en el brote. También ponen de manifiesto la existencia de un ciclo de transmisión silvestre, independiente del doméstico convencional, vinculado a la periferia urbana.

Introducción

El xenodiagnóstico es una metodología que permite probar la presencia de un parásito u otro patógeno en un vertebrado utilizando para tal fin un animal de otra especie, generalmente, el vector invertebrado de la enfermedad. De este modo el agente patógeno podrá ser identificado con más facilidad, sobre todo si dejamos transcurrir el periodo de incubación suficiente que permita su multiplicación un número indeterminado de veces dentro del vector. De hecho, podría ser definido como una au-

téntica "PCR biológica". Resulta especialmente útil cuando la concentración del parásito en el hospedador vertebrado a estudiar es tan baja que no permite un diagnóstico microscópico directo. Se trata de un método parasitológico clásico utilizado por primera vez en Brasil por Brumpt¹ en 1914 para identificar la infección por *Trypanosoma brazili* en una serpiente de agua (*Helicops modestus*). El xenodiagnóstico se ha utilizado durante décadas para el aislamiento y/o identificación de *Trypanosoma cruzi* en individuos infectados, por ser, además, un método económico para diagnosticar la infección por este parásito. Hoy en día, es una herramienta utilizada también para aislar y/o identificar *Borrelia* sp., usando garrapatas; arbovirus, usando culícidos y otros dípteros hematófagos o *Leishmania* sp., usando flebotominos². El xenodiagnóstico de la leishmaniasis causada por *Leishmania infantum* se ha utilizado en nuestro entorno con diferentes propósitos, tanto en la leishmaniasis humana como canina. Ha servido para demostrar en el perro que los animales asintomáticos pueden ser tan infectivos como los sintomáticos³⁻⁶. Es muy útil también en el seguimiento parasitológico-entomológico de los perros tratados frente a esta enfermedad⁷⁻¹⁰. En el ser humano el xenodiagnóstico se ha empleado tanto en pacientes inmunocompetentes como en inmunodeprimidos, especialmente en estos últimos, antes y después del tratamiento de la leishmaniasis¹¹⁻¹⁴. Con esta metodología se ha demostrado que los pacientes infectados por el VIH son altamente infectivos para los flebotomos^{12,13}.

También es la técnica idónea para ser utilizada con fines epidemiológicos en la investigación del papel que puedan jugar determinados reservorios potenciales, incluyendo los seres humanos, en la propagación de enfermedades transmitidas por vectores¹⁵. En concreto, está siendo muy útil en el estudio de los reservorios selváticos presentes en el foco comunitario de leishmaniasis de Fuenlabrada y poblaciones colindantes, en particular de liebres y conejos, muy abundantes en el extenso parque de recreo Bosque Sur situado entre las grandes áreas urbanas de Fuenlabrada, Leganés, Alcorcón y Getafe¹⁶⁻¹⁸

El objetivo de estos estudios consistió en dilucidar, mediante la técnica de xenodiagnóstico, el papel epidemiológico que podrían estar jugando en la transmisión de la leishmaniasis los lagomorfos - liebres y conejos - presentes en las zonas verdes de Bosque Sur.

Material y métodos

La investigación de la infectividad de liebres y conejos se llevó a cabo exponiendo durante 1 hora los animales, previamente anestesiados (15 mg/kg de ketamina y 2-3 mg/kg de xilazina por vía intramuscular), a la picadura de 100 hembras de *Phlebotomus perniciosus* procedentes de una colonia establecida en el laboratorio¹⁹. En las Figuras 1 y 2 se muestran algunas fases del proceso de xenodiagnóstico en liebres.

Todas las hembras que se han alimentado durante el periodo de exposición son separadas, una vez finalizado éste, y trasladadas a una cámara climática a 27 °C, una humedad relativa del 95-100% y un fotoperiodo de 17 horas de luz y 7 horas de oscuridad. Al cabo de unos 5-6 días de alimentación con una solución de fructosa al 30%, se procederá a la disección de todas las hembras supervivientes.

Las disecciones se realizan colocando cada hem-

bra por separado en una gota de PBS estéril, que previamente se habrá depositado sobre un portaobjetos estéril. Después, con la ayuda de agujas entomológicas estériles, se separaran la cabeza, las alas y las patas y se extrae a continuación el tubo digestivo completo, que se transfiere a otra gota de PBS estéril depositada sobre el mismo portaobjetos. Finalmente, se coloca un cubreobjetos estéril sobre el tubo digestivo para ser examinado en un microscopio en busca de promastigotes de *Leishmania* sp.

Si se observan flagelados en el tubo digestivo se debe presionar cuidadosamente sobre el cubreobjetos hasta que el tubo digestivo se rompa, liberándose así los promastigotes. Finalmente, se retira el cubreobjetos, con la ayuda de unas pinzas estériles, y se inocula todo en un tubo de medio NNN, utilizando para ello una pipeta Pasteur estéril. El objetivo no es otro que el aislamiento de la correspondiente cepa de *Leishmania* para su conservación a -80 °C y su posterior caracterización molecular, de acuerdo al análisis de las secuencias ITS1, ITS2.

Una vez disecadas todas las hembras alimentadas sobre cada animal, que hayan sobrevivido hasta el momento de su disección, se establecerán las correspondientes tasas de infección, si hubiese resultado infectivo el animal.

Resultados y discusión

Xenodiagnóstico de liebres (*Lepus granatensis*)

Se seleccionaron siete liebres aparentemente sanas que fueron capturadas en la zona del brote durante el invierno de 2011-2012 y que presentaban una serología positiva a *L. infantum* determinada mediante el test de inmunocromatografía rápida rk39 (Kalazar Detect® Canine Rapid Test, InBios). Cuatro de las siete liebres (57,14%) mostraron resultados de xenodiagnóstico positivos, siendo capaces



Figura 1. Xenodiagnóstico de la leishmaniasis en conejos y liebres.

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII .



Figura 2. Xenodiagnóstico de la leishmaniosis en un conejo.

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII .

de infectar una media de 5,1% (0-10,6%) *P. perniciosus*, tal y como se muestra en la tabla 1. En la figura 3 se pueden observar los promastigotes de *L. infantum* tras realizar la disección del tubo digestivo de una hembra de *P. perniciosus* alimentada de una liebre infectada.

El cultivo y posterior aislamiento de ADN de tres de los aislados permitió realizar la caracterización molecular. Las secuencias de las regiones ITS concuerdan en un 100% de identidad con la cepa de *L. infantum* MHOM/ES/87/Lombardi (número de acceso en GenBank: AJ000295).

La elevada población de liebres presentes en las zonas verdes de Bosque Sur, unas 265 liebres/km^{20,21}, en combinación con las altas prevalencias de infección por *L. infantum* detectadas en liebres capturadas en esta zona, con seroprevalencias del 74,1% y presencia de ADN del parásito en bazo y/o piel en el 29%^{22,23}, ya apuntaban a que las liebres podían estar jugando un papel como reservorios de *L. infantum* en este escenario. Por otro lado, se determinó que las liebres son una buena fuente de alimentación sanguínea, tal y como se deriva de estudios sobre el origen de la sangre ingerida de flebotomos capturados en el campo¹⁸ y de la detección de anticuerpos

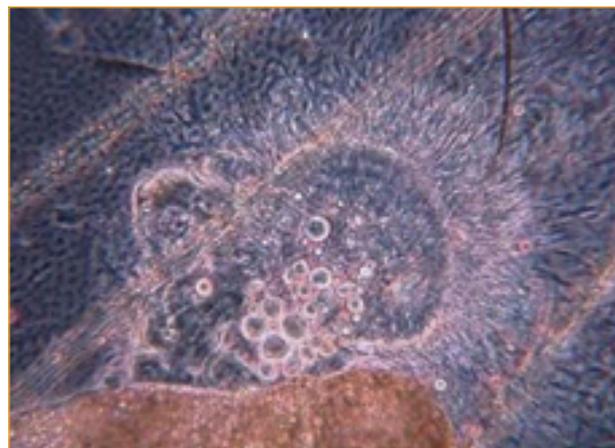


Figura 3. *Phlebotomus perniciosus* infectados con *Leishmania infantum* tras el xenodiagnóstico de una liebre.

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII .

frente a la saliva de *P. perniciosus* en el suero de liebres de la zona²⁴.

Los resultados obtenidos en los xenodiagnósticos realizados en el presente estudio han evidenciado, por vez primera, la capacidad de la liebre ibérica (*Lepus granatensis*) de infectar al vector competente *P. perniciosus*¹⁷, lo que ha permitido demostrar de una manera irrefutable la implicación de estos lagomorfos como reservorios silvestres de *L. infantum* en el brote de leishmaniasis del suroeste de la Comunidad de Madrid.

Por otro lado, en estudios realizados mediante PCR con liebres procedentes de diversas zonas geográficas de España²⁵, se observa que la prevalencia de la infección alcanza valores muy elevados, tanto en *Lepus granatensis* como en *Lepus europaeus*.

Estos datos en su conjunto poseen un extraordinario valor epidemiológico, aportando una información muy útil para el adecuado diseño y desarrollo de planes de vigilancia y control de la enfermedad que deberán contemplar actuaciones frente a este nuevo reservorio de *L. infantum*.

Tabla 1

RESULTADOS DEL XENODIAGNÓSTICO DE LA LEISHMANIASIS EN LIEBRES

FECHA	CÓDIGO LIEBRE	FLEBOTOMOS ALIMENTADOS	FLEBOTOMOS DISECADOS	FLEBOTOMOS DISECADOS (%)
01/12/11	L18	85	63	5 (7'9%)
	L19	55	25	0
11/01/12	L34	75	47	5 (10,6%)
	L35	58	38	2 (5'3%)
	L38	82	45	0
	L39	63	42	0
	L40	80	33	3 (9'1%)
TOTAL		498	293	15 (5'1%)

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII

Xenodiagnóstico de conejos silvestres (*Oryctolagus cuniculus*)

Se analizaron 10 conejos seropositivos a *L. infantum* y aparentemente sanos que habían sido capturados en las inmediaciones de la zona afectada por el brote en los meses de marzo y octubre de 2013. Cinco de los diez conejos estudiados (50%) fueron capaces de infectar a los flebotomos. Concretamente, se detectaron flagelados en una media de 0,94% (0-2%) de *P. perniciosus*. Los resultados de los estudios de xenodiagnóstico sobre los conejos se exponen en la tabla 2.

El cultivo de cuatro de los cinco aislados de *Leishmania* y la posterior extracción y análisis de su ADN permitió confirmar la presencia de *L. infantum* en todos ellos mediante la amplificación del gen *cpb*. La caracterización molecular de acuerdo a la secuenciación de las regiones transcritas internas ITS1 e ITS2 mostró que los cuatro aislados eran idénticos a los encontrados en liebres.

Estudios publicados muy recientemente revelan seroprevalencias elevadas frente a *L. infantum* en conejos capturados en Madrid²⁶ y en Granada²⁷ mientras que en el sureste de la Península Ibérica, concretamente en Murcia, se ha identificado ADN de *L. infantum* en bazo de tan sólo un conejo (0,6%)²⁸. En la zona afectada por el brote se detectó inicialmente, durante 2011 y 2012, ADN de *L. infantum* en bazo y/o piel del 1,5% de los conejos²², cifra que se ha incrementado sensiblemente con posterioridad. Por otro lado, la seroprevalencia de la leishmaniasis en estos lagomorfos mediante inmunofluorescencia indirecta se eleva al 45,7% en esta misma zona²³.

Los estudios de xenodiagnóstico en conejos silvestres infectados de forma natural con *L. infantum* demuestra, por vez primera, su capacidad de transmitir el parásito al vector *P. perniciosus*, aunque aparentemente en menor medida que las liebres (en promedio, 5,1% de flebotomos infectados de liebres versus 0,94% de conejos).

En este caso se determinó que los conejos también son una buena fuente de alimentación sanguínea, tal y como se deriva de los estudios realizados sobre el origen de la sangre ingerida por flebotomos capturados en el campo¹⁸ y de la detección de anticuerpos frente a la saliva de *P. perniciosus* en el suero de conejos de Bosque Sur²⁴.

Las medidas de control encaminadas a la reducción de reservorios silvestres en la zona del brote, llevadas a cabo durante 2012, han hecho descender notablemente la población de liebres, lo que parece haber modificado los hábitos alimentarios del vector, ya que los flebotomos han pasado de alimentarse preferentemente de liebres en 2012¹⁸ a conejos durante 2013¹⁶. Como los conejos han demostrado ser una buena fuente de alimentación sanguínea para los flebotomos, además de ser capaces de transmitir el parásito al vector competente, también pueden estar jugando un papel como reservorios de la leishmaniasis, aunque probablemente en menor grado. En cualquier caso, este aspecto ha de ser tenido en cuenta en este particular brote de leishmaniasis.

Los estudios de xenodiagnóstico, tanto de liebres como de conejos, se llevaron a cabo en su mayor parte en unas fechas en las que la zona estaba libre de flebotomos, al encontrarse estos en letargo^{16,17}, lo que sería una demostración de que estos animales sufren infecciones crónicas de la enfermedad. Este hecho convierte a estos lagomorfos en reservorios potenciales de *L. infantum*, dada su capacidad de albergar el parásito hasta la siguiente temporada de actividad de los flebotomos, con la consiguiente posibilidad de transmisión de la enfermedad.

La caracterización molecular de los aislados de *L. infantum* procedentes de liebres y conejos comparten el mismo genotipo responsable de la mayoría de los casos de leishmaniasis humana del brote²⁹, detectado también en los flebotomos capturados en la zona¹⁸, datos que apoyan la implicación de

Tabla 2
RESULTADOS DEL XENODIAGNÓSTICO DE LA LEISHMANIASIS EN CONEJOS

FECHA	CÓDIGO CONEJO	FLEBOTOMOS ALIMENTADOS	FLEBOTOMOS DISECADOS	FLEBOTOMOS POSITIVOS (%)
04/03/13	1XC13	48	33	0
	2XC13	99	83	0
	3XC13	86	65	1 (1'54%)
	4XC13	72	54	1 (1'85%)
09/10/13	5XC13	57	50	1 (2'00%)
	6XC13	67	45	0
	7XC13	71	61	1 (1'64%)
	8XC13	36	23	0
	9XC13	90	53	1 (1'89%)
	10XC13	80	64	0
TOTAL		706	531	5 (0,94%)

Fuente: Unidad de Entomología Médica, ISCIII

estos animales silvestres como reservorios de *L. infantum* en el brote.

Por tanto, los estudios de xenodiagnóstico han constatado que ambos lepóridos están jugando un papel importante, aunque posiblemente en diferente grado, como reservorios activos del parásito en el brote. Se ha puesto así de manifiesto la existencia de un ciclo de transmisión silvestre, independiente del doméstico tradicional, vinculado a la periferia urbana.

Conclusiones

- Se ha demostrado por primera vez la capacidad de liebres (*L. granatensis*) y conejos silvestres (*O. cuniculus*), aparentemente sanos, de infectar con *L. infantum* a *P. perniciosus* procedentes de una colonia de flebotomos establecida en el laboratorio.
- Liebres y conejos silvestres mantienen su capacidad infectiva durante el invierno, ya que son

capaces de transmitir *L. infantum* a flebotomos procedentes de colonias de laboratorio, confirmando el papel de estos lepóridos como reservorios del parásito.

- Se ha aislado la misma cepa de *L. infantum* en muestras clínicas de casos humanos, flebotomos capturados en el campo (Bosque Sur), así como en los lepóridos silvestres.
- Los datos refuerzan la hipótesis de la existencia de un intenso ciclo de transmisión del parásito entre la fauna silvestre de la zona del brote, fundamentalmente liebres y conejos.
- La información epidemiológica aportada con estos estudios está sirviendo para orientar de una manera más clara y precisa la elección de las medidas más eficaces para el control de la enfermedad en la zona, que están frenando el incremento del número de nuevos casos de leishmaniosis humana.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Brumpt E. Le xénodagnostic. Application au diagnostic de quelques infection parasitaires et in particulier à la trypanosome de Chagas. Bull. Soc. Pathol. Exot. 1914; 77: 706-710.
- ² Meiser CK, Schaub GA. Chapter 12. Xenodiagnosis. In H. Mehlhorn (ed.), Nature Helps, Parasitology Research Monographs 1, DOI: 10.1007/978-3-642-19382-8_12, Springer-Verlag 2011 Berlín Heidelberg.
- ³ Molina R, Amela C, Nieto J, San-Andrés M, González F, Castillo JA, Lucientes J, Alvar J. Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 1994; 88: 491-493.
- ⁴ da Costa-Val AP, Cavalcanti RR, de Figueiredo Gontijo N, Michalick MS, Alexander B, Williams P, Melo MN. Canine visceral leishmaniasis: relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. Vet. J. 2007; 174: 636-643.
- ⁵ Michalsky EM, Rocha MF, da Rocha Lima AC, Franca-Silva JC, Pires MQ, Oliveira FS, Pacheco RS, dos Santos SL, Barata RA, Romanha AJ, Fortes-Dias CL, Dias ES. Infectivity of seropositive dogs, showing different clinical forms of leishmaniasis, to *Lutzomyia longipalpis* phlebotomine sand flies. Vet. Parasitol. 2007; 147: 67-76.
- ⁶ Laurenti MD, Rossi CN, Matta VL, Tomokane TY, Corbett CE, Secundino NF, Pimenta PF, Marcondes M. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* to the natural vector. Vet. Parasitol. 2013; 196: 296-300.
- ⁷ Gradoni L, Maroli M, Gramiccia M, Mancianti F. *Leishmania infantum* infection rates in *Phlebotomus perniciosus* fed on naturally infected dogs under antimonial treatment. Med. Vet. Entomol. 1987; 1: 339-342.
- ⁸ Alvar J, Molina R, San Andrés M, Tesouro M, Nieto J, Vitutia M, González F, San Andrés MD, Boggio J, Rodríguez F, y col. Canine leishmaniasis: clinical, parasitological and entomological follow-up after chemotherapy. Ann. Trop. Med. Parasitol. 1994; 88: 371-378.
- ⁹ Ribeiro RR, Moura EP, Pimentel VM, Sampaio WM, Silva SM, Schettini DA, Alves CF, Melo FA, Tafuri WL, Demicheli C, Melo MN, Frezard F, Michalick MS. Reduced tissue parasitic load and infectivity to sand flies in dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* following treatment with a liposome formulation of meglumine antimoniate. Antimicrob. Agents. Chemother. 2008; 52: 2564-2572.
- ¹⁰ Miró G, Gálvez R, Fraile C, Descalzo MA, Molina R. Infectivity to *Phlebotomus perniciosus* of dogs naturally parasitized with *Leishmania infantum* after different treatments. Parasit. Vectors 2011; 4: 52.
- ¹¹ Molina R, Alvar J. A simple protocol for the indirect xenodiagnosis of *Leishmania infantum* in the blood of HIV-infected patients. Ann. Trop. Med. Parasitol. 1996; 90: 639-640.
- ¹² Molina R, Lohse JM, Pulido F, Laguna F, López-Vélez R, Alvar J. Infection of sand flies by humans coinfecting with *Leishmania infantum* and human immunodeficiency virus. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1999; 60: 51-53.
- ¹³ Molina R, Cañavate C, Cercenado E, Laguna F, López-Vélez R, Alvar J. Indirect xenodiagnosis of visceral leishmaniasis in 10 HIV-infected patients using colonized *Phlebotomus perniciosus*. AIDS 1994; 8: 277-279.
- ¹⁴ Vergel C, Palacios R, Cadena H, Posso CJ, Valderrama L, Pérez M, Walker J, Travi BL, Saravia NG. Evidence for *Leishmania (Viannia)* parasites in the skin and blood of patients before and after treatment. J. Infect. Dis. 2006; 194: 503-511.
- ¹⁵ Quinnell RJ, Courtenay O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. Parasitology 2009; 1-20.
- ¹⁶ Jiménez M, González E, Martín-Martín I, Hernández S,

- Molina R. Could wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) be reservoirs for *Leishmania infantum* in the focus of Madrid, Spain? *Vet. Parasitol.* 2014; 202: 296-300.
- ¹⁷ Molina R, Jiménez MI, Cruz I, Iriso A, Martín-Martín I, Sevillano O, Melero S, Bernal J. The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania infantum* in Spain. *Vet. Parasitol.* 2012; 190: 268-271.
- ¹⁸ Jiménez M, González E, Iriso A, Marco E, Alegret A, Fuster F, Molina R. Detection of *Leishmania infantum* and identification of blood meals in *Phlebotomus perniciosus* from a focus of human leishmaniasis in Madrid, Spain. *Parasitol. Res.* 2013; 112: 2453-2459.
- ¹⁹ Molina R. Laboratory adaptation of an autochthonous colony of *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911 (Diptera: Psychodidae). *Res. Rev. Parasitol.* 1991; 51: 87-89.
- ²⁰ Antoniou M, Gramiccia M, Molina R, Dvorak V, Volf P. The role of indigenous phlebotomine sandflies and mammals in the spreading of leishmaniasis agents in the Mediterranean region. *Euro Surveill.* 2013; 18: 20540. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20540>
- ²¹ Suárez-Rodríguez B, Isidoro-Fernández B, Santos-Sanz S, Sierra-Moros MJ, Molina-Moreno R, Astray-Mochales J, Amela-Heras C. Situación epidemiológica y de los factores de riesgo de transmisión de *Leishmania infantum* en España. *Rev. Esp. Salud Pública* 2012; 86: 555-564.
- ²² Vilas F, Carpintero J, Sevilla S, Martínez A, Ordoñas M, Bernal J, Díaz R, Iriso A, Sevillano O, Escacena C, De La Fuente S, Arce A, Estirado A, Frutos J, Fúster F. Brote de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid. Medidas de investigación y control medioambiental. *Prof. Vet.* 2012; 17: 6-15.
- ²³ Moreno I, Álvarez J, García N, de la Fuente S, Martínez I, Marino E, Toraño A, Goyache J, Vilas F, Domínguez L, Domínguez M. Detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in sylvatic lagomorphs from an epidemic area of Madrid using the indirect immunofluorescence antibody test. *Vet. Parasitol.* 2014; 199: 264-267.
- ²⁴ Martín-Martín I, Molina R, Rohousova I, Drahota J, Volf P, Jiménez M. High levels of anti-*Phlebotomus perniciosus* saliva antibodies in different vertebrate hosts from the re-emerging leishmaniasis focus in Madrid, Spain. *Vet. Parasitol.* 2014; 202: 207-216.
- ²⁵ Ruiz-Fons F, Ferroglio E, Gortázar C. *Leishmania infantum* in free-ranging hares, Spain, 2004-2010. *Euro Surveill.* 2013; 18: 20541. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20541>
- ²⁶ García N, Moreno I, Alvarez J, de la Cruz ML, Navarro A, Pérez-Sancho M, García-Seco T, Rodríguez-Bertos A, Conty ML, Toraño A, Prieto A, Domínguez L, Domínguez M. Evidence of *Leishmania infantum* Infection in Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in a Natural Area in Madrid, Spain. *Biomed Res. Int.* 2014; 2014: 318254.
- ²⁷ Díaz-Sáez V, Merino-Espinosa G, Morales-Yuste M, Corpas-López V, Pratlong F, Morillas-Márquez F, Martín-Sánchez J. High rates of *Leishmania infantum* and *Trypanosoma nabiasi* infection in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in sympatric and syntrophic conditions in an endemic canine leishmaniasis area: Epidemiological consequences. *Vet. Parasitol.* 2014: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.1003.1029>.
- ²⁸ Chitimia L, Muñoz-García CI, Sánchez-Velasco D, Lizana V, Del Río L, Murcia L, Fisa R, Riera C, Giménez-Font P, Jiménez-Montalbán P, Martínez-Ramírez A, Meseguer-Meseguer JM, García-Bacete I, Sánchez-Isarría MA, Sanchís-Monsonís G, García-Martínez JD, Vicente V, Segovia M, Berriatua E. Cryptic Leishmaniasis by *Leishmania infantum*, a feature of canines only? A study of natural infection in wild rabbits, humans and dogs in southeastern Spain. *Vet. Parasitol.* 2011; 181: 12-16.
- ²⁹ Chicharro C, Llanes-Acevedo I, García E, Nieto J, Moreno J, Cruz I. Molecular typing of *Leishmania infantum* isolates from a leishmaniasis outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill.* 2013; 18: 20545. Disponible en <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20545>

INFECCIÓN POR *LEISHMANIA INFANTUM* EN FAUNA SILVESTRE EN EL BROTE DE LEISHMANIASIS DEL ÁREA 9 DE LA COMUNIDAD DE MADRID (2011-2014)

Carmen Chicharro¹, Silvia Migueláñez¹, María Flores¹, Emilia García¹, Sheila Ortega¹, Fernando Fuster², Javier Bernal², Israel Cruz¹, y Javier Nieto¹

¹Unidad de Leishmaniasis. Centro colaborador de la Organización Mundial de la Salud para la Leishmaniasis. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

²Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

Resumen

En los últimos años se ha observado un importante aumento del número de casos de leishmaniasis humana en el Área 9 de la Comunidad de Madrid (CM), situada en el suroeste de la región. La CM es una zona endémica en donde la seroprevalencia en perros es aproximadamente del 8%, aunque estudios realizados en esta área durante el inicio del brote mostraron que tiene una tasa menor que en el resto de la CM. Atendiendo a las características biogeográficas, se pensó en la posibilidad de que los animales silvestres de la zona pudieran estar actuando como posibles reservorios. Para determinar esto, desde julio de 2011 hasta julio de 2014, se estudiaron un total de 2.308 muestras biológicas (1.214 de bazo, 1.094 de piel), obtenidas de 1.238 animales capturados en Fuenlabrada y sus alrededores (595 conejos, 462 liebres y 181 gatos). La presencia de *Leishmania* se determinó mediante la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) del gen de la subunidad menor del ribosoma. Del total de animales analizados, 246 estaban infectados por *Leishmania*, esto supone una prevalencia global de 19,9%. Sin embargo, la prevalencia en liebres (*Lepus* spp.) y conejos (*Oryctolagus cuniculus*) fue significativamente mayor con respecto a la prevalencia en los gatos (*Felis catus*), 21,9%, 22% y 7,7%, respectivamente. Los hábitos gregarios, la longevidad, las altas prevalencias

encontradas y la zona donde viven, próxima al área urbana de Fuenlabrada, sugieren que las liebres y los conejos actúan como reservorios silvestres de *L. infantum* en este brote.

Introducción

En el sur de Europa la leishmaniasis fue inicialmente rural, aunque actualmente se está convirtiendo en urbana y periurbana por distintas razones, entre las que habría que destacar los cambios climáticos, económicos y demográficos haciendo de la leishmaniasis una enfermedad emergente o reemergente ¹. La infección ocasionada por *Leishmania* está determinada por una serie de factores que permiten el contacto íntimo de los parásitos con los flebotomos y con los diferentes hospedadores vertebrados, llevando a cabo el desarrollo completo y continuo de su ciclo biológico.

Se define como reservorios naturales de una enfermedad aquellos animales que garantizan la persistencia del agente etiológico y facilitan su posterior transmisión. En este sentido, para considerar un animal reservorio de leishmaniasis, debe reunir las siguientes condiciones ²:

1. El animal, de hábitos gregarios, debe estar representado en número suficiente en el nicho ecológico donde aparece la enfermedad y debe ser lo bastante longevo para asegurar que es

fuentes de alimentación del insecto vector. El contacto entre estos animales, considerados reservorios, y el flebotomo tiene que estar asegurado.

2. El curso de la enfermedad en los reservorios debe ser crónica, para que los parásitos estén en cantidad y tiempo suficientes para asegurar la infección en los flebotomos.
3. La prevalencia de la infección debe ser alta para que se pueda justificar la aparición de casos clínicos humanos y animales, favoreciendo la transmisión a los flebotomos.
4. Los aislados de *Leishmania*, una vez caracterizados, deben ser iguales en los diferentes reservorios (domésticos y silvestres), en el hombre y en los flebotomos.

El perro cumple estos requisitos y es considerado el reservorio principal de la leishmaniasis cutánea y visceral, causada por *L. infantum* en el Viejo Mundo. En los perros, normalmente, esta infección se manifiesta de forma subclínica crónica³, sólo una pequeña proporción de animales desarrollan síntomas de la enfermedad⁴, permaneciendo la mayoría asintomáticos⁵. La seroprevalencia canina en la cuenca mediterránea varía entre un 5 y un 30%, dependiendo de la región³. Sin embargo, cuando se utiliza la PCR para determinar la infección, se encuentran tasas más altas, llegando al 70-80% en algunos de los focos⁶. Por ello, las medidas de control de la enfermedad pasan, entre otras, por controlar los flebotomos, que a su vez implica el tratamiento de perros con insecticidas, esta medida tiene un efecto protector del 84%⁷. Sin embargo, el aumento de la incidencia de leishmaniasis por *L. infantum*, sugiere que las medidas de control existentes no son muy eficaces⁸ y que pueden existir otros reservorios que no se han considerado hasta ahora.

En diferentes revisiones de la epidemiología de la leishmaniasis, que se han publicado en los últimos años, se ha considerado el papel potencial de los reservorios silvestres de forma muy superficial. Aunque en España y otros países de Europa se ha comprobado la existencia de un gran número de animales silvestres infectados por *L. infantum*, el primer estudio que se realizó en Europa sobre el papel de los animales silvestres en la epidemiología de la leishmaniasis fue realizado por Rioux *et al.*⁹. En diferentes trabajos se demostró la presencia del parásito en diferentes especies de ratón (*Mus spretus* y *Apodemus sylvaticus*), ratas (*Rattus rattus* y *Rattus norvegicus*), tejón (*Meles meles*), mangostas (*Herpestes ichneumon*), marta (*Martes martes*), gineta (*Geneta geneta*), lince ibérico (*Lynx pardinus*), comadreja (*Mustela nivalis*), lobo (*Canis lupus*) y zorro (*Vulpes vulpes*) (Revisado por Molina *et al.*, 2012). La infección por *L. infantum* en la fauna silvestre en Europa se detectó, tanto mediante técnicas serológicas

como parasitológico/moleculares. Estos estudios se realizaron en áreas con diferente grado de endemidad de la leishmaniasis y, en los últimos años, ha sido notable el aumento en las tasas de infección, debido probablemente al uso cada vez más frecuente de técnicas moleculares^{11,12,13,14}. Los cánidos silvestres como el zorro, el lobo y el chacal aparecen parasitados en una alta proporción, aunque su baja densidad y lejanía del hombre los relega a un segundo plano como reservorios de *L. infantum*. Sólo el zorro, con su mayor proximidad al hombre, podría estar acercando el ciclo selvático al doméstico. De hecho, se estima que la seroprevalencia en zorros oscila entre el 0 y el 18%, mientras que la prevalencia molecular oscila entre el 5 y el 75% (revisado por Millan *et al.*¹⁵).

En el sur de España se observó que los conejos silvestres (*Oryctolagus cuniculus*) tienen riesgo, aunque muy bajo, de ser infectados por *L. infantum*¹⁶. Sin embargo, otros autores encontraron una seroprevalencia elevada en estos animales (45,7%) y todavía más elevada en liebres (74,1%)¹⁷. Muy recientemente se ha comprobado experimentalmente que los flebotomos pueden alimentarse de liebres y conejos y que pueden transmitir en el laboratorio los promastigotes de *Leishmania*^{10,18}. Algo similar se demostró en Italia con la rata negra^{19,20}. Por otra parte, Zanet *et al.*²¹, comprobaron recientemente que en la isla de Montecristo (Italia), donde no existen perros ni otro tipo de carnívoros, el 15,5% de ratas negras estaban infectadas por *L. infantum*.

Desde mediados de 2009 hasta la actualidad se han registrado más de 600 casos clínicos humanos en el Área 9 de la Comunidad de Madrid. Curiosamente, casi todos los infectados son adultos inmunocompetentes, cuando en España, la leishmaniasis afectaba, fundamentalmente, a niños e inmunocomprometidos²². Además, tras la tipificación molecular de las cepas aisladas a partir de las muestras clínicas de diferentes hospedadores, se comprobó que es un mismo subtipo de *L. infantum* el que está involucrado en el establecimiento del brote, el subtipo Lombardi, que venía incluso circulando desde 1987²³. Por otro lado, los estudios serológicos realizados en la población canina muestran que la seroprevalencia en esta zona es del 1,6 - 2 % (datos propios no publicados), más baja que la estimada en el resto de la CM de un 8 %²⁴.

Por ello, nos marcamos como objetivo de este trabajo determinar mediante PCR, la infección por *L. infantum* en diferentes especies de animales silvestres del Área 9 de la CM y comprobar su posible implicación como reservorios en este brote de leishmaniasis humana.

Material y métodos

El estudio se realizó en animales silvestres del Área 9 de la CM (Fuenlabrada) y sus alrededores.

Los animales fueron capturados por la D.G. de Medio Ambiente o D.G. de Ordenación e Inspección de la Consejería de Sanidad de la CM y remitidos a VISAVET, donde se extrajeron las muestras de bazo y piel. Estas muestras fueron recogidas en 250 µl de NET 10 (NaCl 100 mM, EDTA 10 mM, Tris-HCl 10 mM) y conservadas a -20 °C hasta su envío a la Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la leishmaniasis, del Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III para su posterior análisis. Desde julio de 2011 hasta julio de 2014 se procesaron un total de 2.308 muestras (1.214 de bazo y 1.094 de piel), obtenidas de 1.238 animales (595 conejos, 462 liebres y 181 gatos).

Para la extracción del ADN se utilizó el kit comercial QIAamp DNA mini Blood Mini kit (QIAGEN®), siguiendo las instrucciones del protocolo recomendado para tejidos. El ADN se eluyó en 200 µl de agua destilada estéril y se conservó a 4 °C hasta su utilización. La amplificación del ADN de *Leishmania* se realizó siguiendo el protocolo descrito por Cruz et al.²⁵.

Los resultados fueron tabulados en un archivo de Excel 2010 y analizados mediante el programa IBM® SPSS® statistics version 22.

Resultados

En el periodo de julio de 2011 a julio de 2014 se analizaron 2.308 muestras de bazo y piel, obtenidas a partir de 1.238 animales capturados en Fuenlabrada y sus alrededores. De ellos 246 (19,9%) estaban infectados por *L. infantum*, 131 fueron conejos (22%), 101 liebres (21,9%) y 14 gatos (7,7%).

La tabla 1 y las figuras 1 y 2 recogen las muestras procesadas de cada una de las especies estudiadas. La presencia de *L. infantum* en el bazo fue detectada en el 9,71% del total de los conejos, en el 7,9% de las liebres y el 7,2% de los gatos. En contraste, la presencia de *Leishmania* en piel se detectó en el 16,3% de los conejos, el 16,2% de las liebres y el 1,2% en gatos.

En la tabla 2 se observa la correlación de la presencia de *L. infantum* en bazo y piel en 1.071 casos. Sólo en el 2,2% de los animales se detectó *L. in-*

Tabla 1

DETECCIÓN DE *LEISHMANIA INFANTUM* EN MUESTRAS DE BAZO Y DE PIEL EN ANIMALES CAPTURADOS EN FUENLABRADA Y SUS ALREDEDORES COMUNIDAD DE MADRID JULIO 2011 – JULIO 2014

ANIMAL	N	INFECTADO		BAZO			PIEL		
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	No hay muestra	Positivo	Negativo	No hay muestra
Conejo	595	131	464	56	521	18	92	473	30
Liebre	462	101	361	36	421	5	72	373	17
Gato	181	14	167	13	167	1	1	83	97
TOTAL	1238	246	992	105	1109	24	165	929	144

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIII.

Tabla 2

CORRELACIÓN DE LA PRESENCIA DE *L. INFANTUM* EN BAZO Y PIEL

ANIMAL		BAZO				TOTAL		
		Positivo	(%)	Negativo	(%)			
CONEJO	PIEL	Positivo	17	(3,1)	73	(13,3)	90	(16,5)
		Negativo	36	(6,6)	421	(77,0)	457	(83,5)
	TOTAL	53	(9,7)	494	(90,3)	547	(100)	
LIEBRE	PIEL	Positivo	7	(1,6)	64	(14,5)	71	(16,1)
		Negativo	21	(4,8)	348	(79,1)	369	(83,9)
	TOTAL	28	(6,4)	412	(93,6)	440	(100)	
GATO	PIEL	Positivo	0	(0,0)	1	(1,2)	1	(1,2)
		Negativo	7	(8,3)	76	(90,5)	83	(98,8)
	TOTAL	7	(8,3)	77	(91,7)	84	(100)	
TOTAL	PIEL	Positivo	24	(2,2)	138	(12,9)	162	(15,1)
		Negativo	64	(6,0)	845	(78,9)	909	(84,9)
	TOTAL	88	(8,2)	983	(91,8)	1.071	(100)	

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIII.

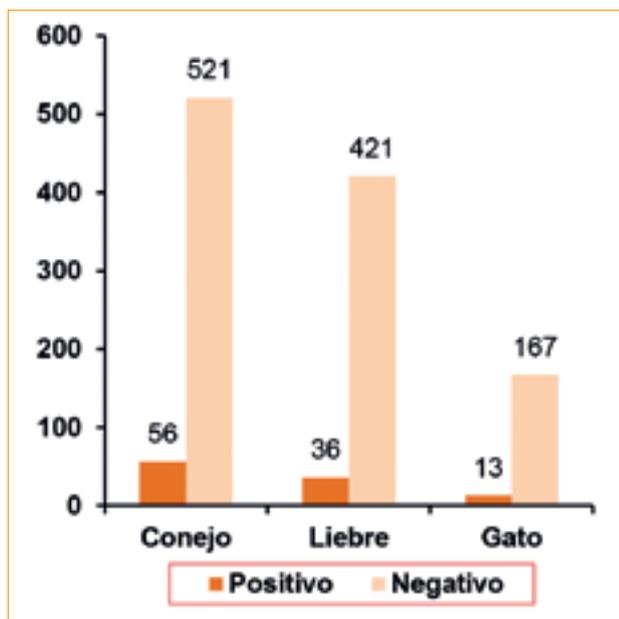


Figura 1. Detección de *L. infantum* en muestras de bazo.

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIH.

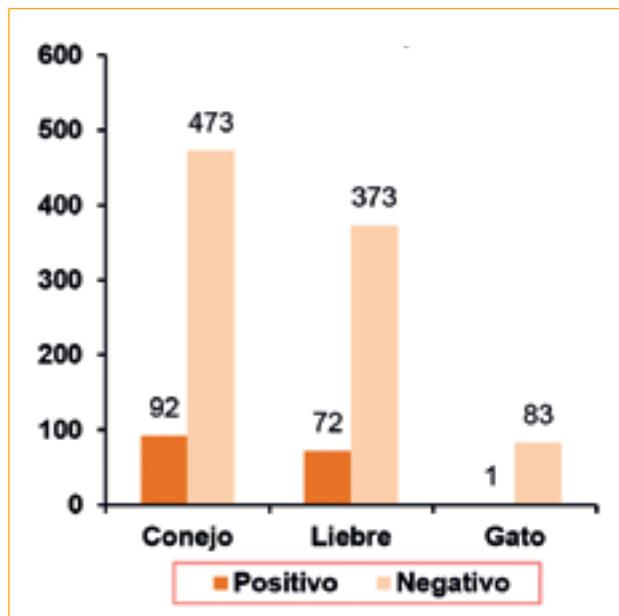


Figura 2. Detección de *L. infantum* en muestras de piel.

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIH.

fantum en ambos tejidos. Fue notable la detección de un mayor número de casos positivos mediante el análisis de las muestras de piel vs las del bazo, especialmente en conejos (16,5% vs 9,7%) y liebres (16,1% vs 6,4%). Esta relación fue inversa en los gatos (1,2% vs 8,3%).

Asimismo, se pudo observar que la frecuencia de

la presencia de *L. infantum* a lo largo del periodo de estudio fue similar (figuras 3, 4, 5 y 6), principalmente en la piel de las liebres (figura 6), mientras que en los conejos se observó un aumento de la incidencia de casos positivos en el segundo trimestre de 2014 (figuras 3 y 4). Por el contrario, la presencia de *L. infantum* en gatos fue intrascendente todo el tiempo (figuras 7 y 8).

Discusión

Como en todos los países de la Cuenca Mediterránea, en España, la leishmaniasis es una zoonosis endémica, el parásito responsable de todas las formas clínicas es *L. infantum*, y el principal reservorio encontrado hasta ahora ha sido el perro³.

En Madrid la leishmaniasis se ha observado principalmente en zonas rurales y periurbanas de la región. Sin embargo, en el suroeste de CM, el número de los nuevos casos de leishmaniasis humana ha ido en constante aumento desde 2010. Su incidencia creció de 3 casos por 100.000 habitantes en 2009, a 55,7 en 2011. Como se describe en otros capítulos, no se encontró un factor epidemiológico clásico que explicara esta situación. El único dato relevante que se obtuvo mediante los análisis epidemiológicos de este brote fue que la población afectada residía en las proximidades de un nuevo parque, en el que se comprobó, en ese momento, que la población de liebres y conejos era muy elevada. Con estos antecedentes se inició un estudio para determinar la implicación de otros reservorios, diferentes al perro, que estarían participando en la transmisión de la enfermedad en este brote, concretamente estudiamos la presencia de *Leishmania* en liebres, conejos y gatos.

Para ello utilizamos como herramienta de trabajo la detección de *Leishmania* mediante la PCR, que a diferencia de las técnicas serológicas, no presenta la posibilidad de reactividad inespecífica ni reactividad cruzada con otros tripanosomátidos. Utilizando esta herramienta pudimos comprobar que en el Área 9 de la CM las liebres, los conejos y los gatos, aparentemente asintomáticos, están infectados con *L. infantum*, con una prevalencia global del 20%. La ausencia o baja prevalencia de lesiones parece ser una característica común en los estudios de otros reservorios, que no sean los perros^{26,27,8,12,28}.

Debemos destacar que la prevalencia en liebres y conejos fue significativamente mayor con respecto a la prevalencia en los gatos: 21,9%, 22% y 7,7%, respectivamente. Sin embargo, estos valores son inferiores a los resultados obtenidos mediante estudios serológicos. Moreno *et al.*¹⁷, en esta misma zona geográfica, reportaron una seroprevalencia del 74,1% en liebres, 45,7% en conejos y 9,3% en gatos. Asimismo, García *et al.*²⁹ describen una seroprevalencia incluso mayor en conejos, del 75,4%; si bien de forma similar a nuestros resultados, observaron

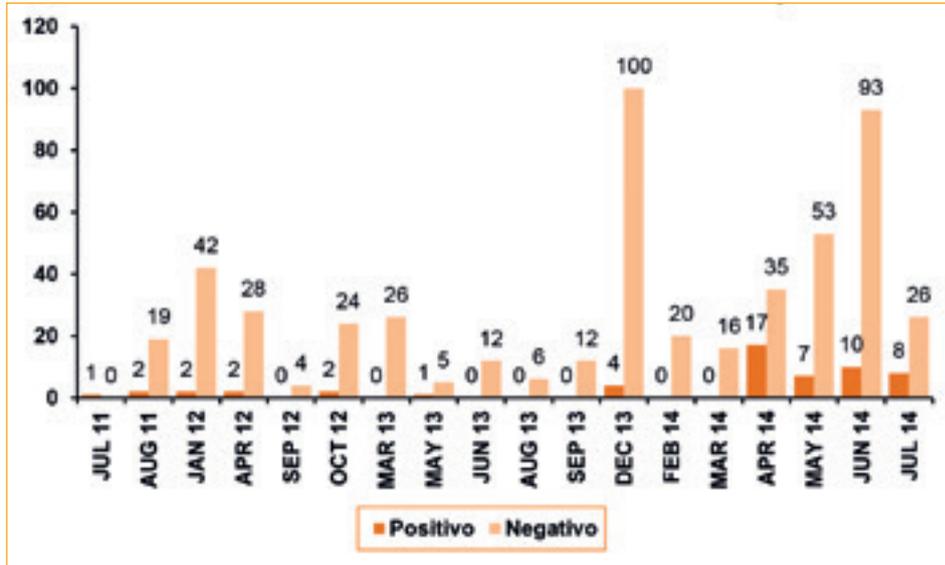


Figura 3. Detección de *L. infantum* en muestras de bazo de conejos.

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIH.

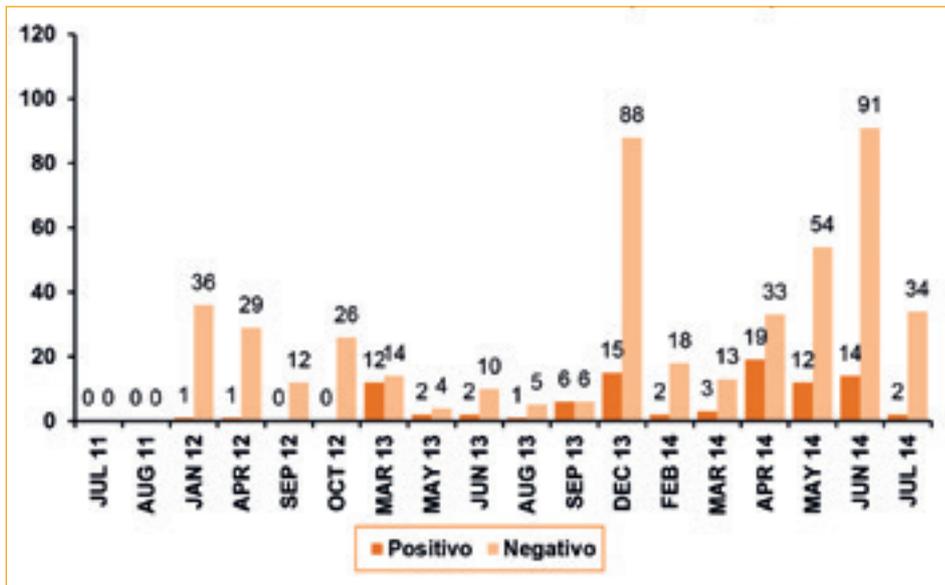


Figura 4. Detección de *L. infantum* en muestras de piel de conejos.

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIH.

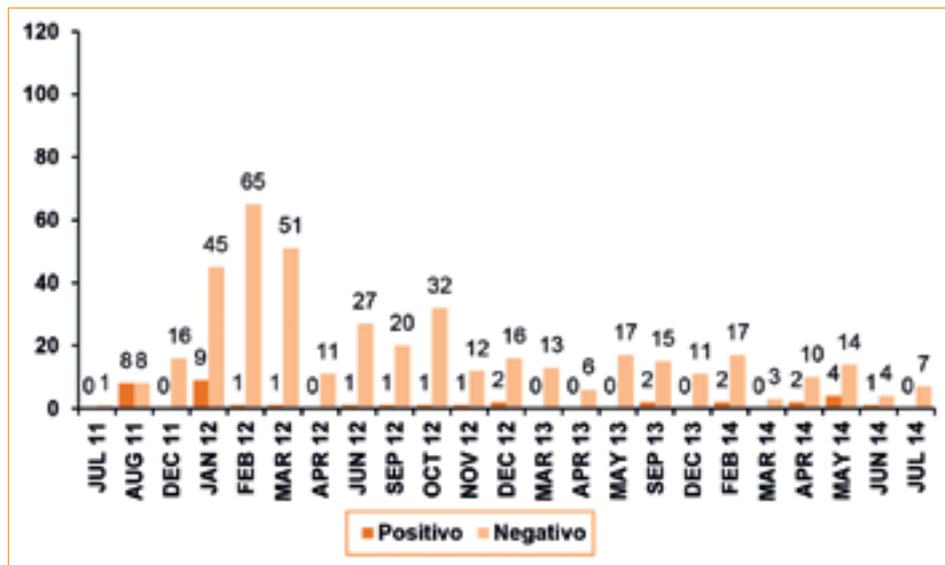


Figura 5. Detección de *L. infantum* en muestras de bazo de liebres.

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIH.

Figura 6. Detección de *L. infantum* en muestras de piel de liebres.

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIH.

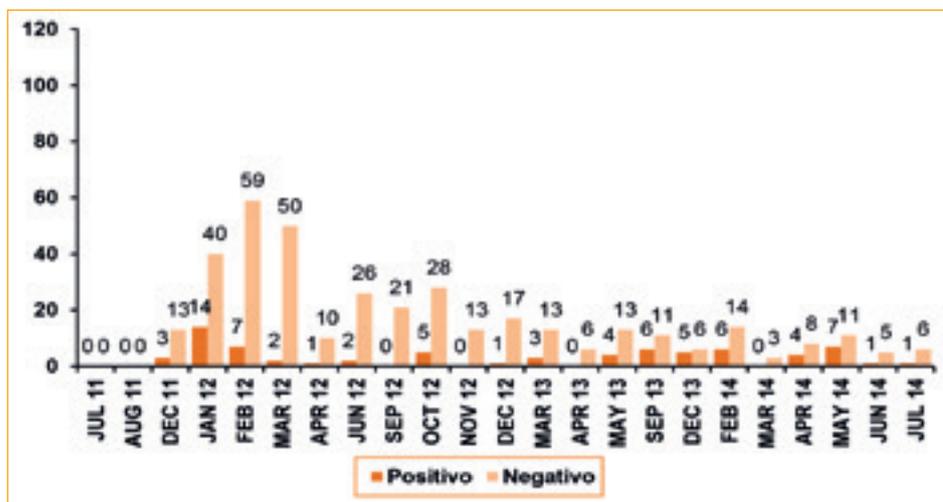


Figura 7. Detección de *L. infantum* en muestras de bazo de gatos callejeros.

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIH.

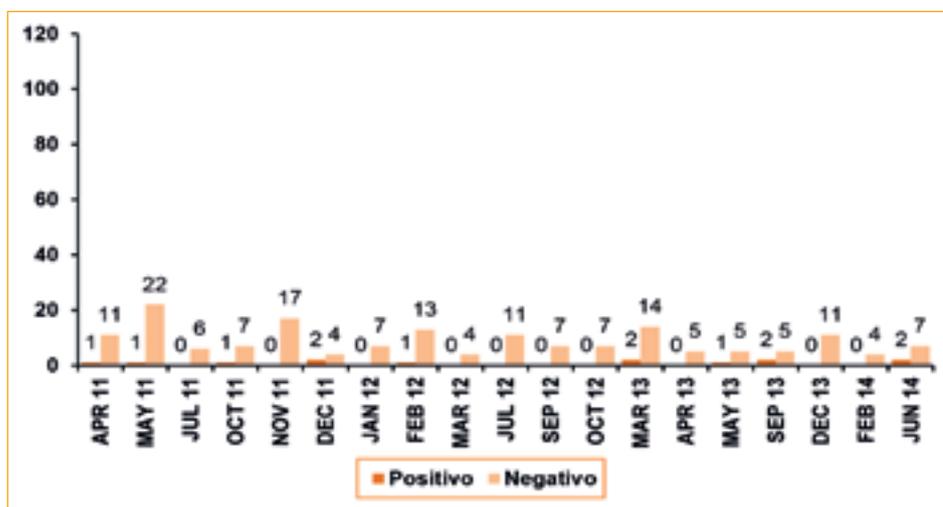
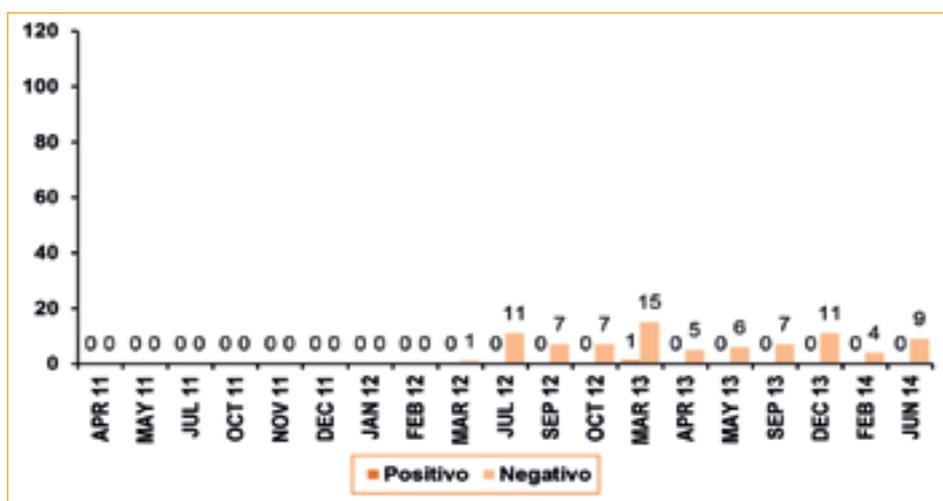


Figura 8. Detección de *L. infantum* en muestras de piel de gatos callejeros.

Fuente: Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas, Centro Colaborador de la OMS para la Leishmaniasis, CNM-ISCIH.



que la detección de la presencia de ADN del parásito fue del 17,4% en piel y del 2,9% en bazo.

Como hemos comentado, la detección de anticuerpos anti-*Leishmania* no necesariamente dis-

tingue la infección con otros tripanosomátidos. Recientemente Diaz-Saez, et al.³⁰, en un área endémica de leishmaniasis canina (provincia de Granada), observaron en conejos la presencia de otro

parásito *Kinetoplastidae*, *Trypanosoma nabiasi*, cuya prevalencia era elevada, el 82,4% de los animales estaban infectados. En cambio, sólo el 20,7% de ellos estaban infectados con *L. infantum*, observándose un 14,8% de infecciones mixtas. Si bien observaron que la seroprevalencia no era directamente proporcional a la presencia de parásitos, sus resultados reflejan la posibilidad de reacciones cruzadas entre ambos kinetoplastidos, por lo que hay que tener mucho cuidado en la interpretación de los resultados serológicos, especialmente cuando se utilizan técnicas basadas en antígenos totales, y el punto de corte es difícil de definir. Este hecho puede ser la justificación por la que las seroprevalencias sean más elevadas con respecto a la detección del parásito por métodos moleculares. Si bien en nuestro estudio no hemos realizado cultivos ni microscopía de las muestras biológicas obtenidas, es importante indicar que los amastigotes de ambos tripanosomátidos son indistinguibles y las formas flageladas de los cultivos pueden inducir a error en su identificación³⁰.

Hay que destacar también que, en otras regiones de nuestro país, se ha comprobado la presencia de *L. infantum* en liebres, con una prevalencia media de 43,6% y un rango entre 0% y 64,3%³¹. Los animales procedentes de la región correspondiente a Madrid presentaron una prevalencia del 60%, este valor es tres veces mayor respecto al valor que hemos obtenido. Esta diferencia podría estar relacionada con el hecho de que se tratan de periodos de estudio diferentes, 2004-2010 vs 2011-2014, y con el pequeño número de especímenes analizados, 10 vs 462 respectivamente.

Otro hecho interesante es la diferencia de la presencia de *Leishmania* en piel y bazo, detectamos un mayor número de casos positivos en piel con respecto a lo encontrado en el bazo, en los conejos 16,5% vs 9,7%, en las liebres 16,1% vs 6,4%, relación que se encuentra invertida en los gatos, 1,2% vs 8,3%. Sólo García *et al.*²⁹ observaron un patrón similar en conejos. El resto de estudios carecen de esta información o el número de muestras analizadas es limitado. Esta diferencia podría explicar la facilidad que tendría el vector para alimentarse de sangre infectada. De hecho Molina *et al.*¹⁰ y Jiménez *et al.*¹⁸ comprobaron, por primera vez, mediante xenodiagnóstico, que las liebres y los conejos de este área, infectados naturalmente y aparentemente sanos, podían transmitir *L. infantum* de forma experimental a vectores competentes, *P. perniciosus*. En el primer estudio determinaron que cuatro de las siete liebres infectaron a una media de 4,7% de los flebotomos. En el segundo comprobaron que el 50% (5/10) de los conejos infectaban a un 0,94 % de los vectores.

Así mismo, en los casos en los que ha sido posible la caracterización molecular de las cepas de *Leishmania* aisladas de liebres (mediante el estudio de la región ITS-1 e ITS2), los resultados obtenidos coinciden con los observados en las cepas del pará-

sito aisladas de los casos humanos del mismo área geográfica^{23,10}.

Los parámetros ecológicos que caracterizan a estos animales silvestres (distribución geográfica, biotopo, hábitat, nicho, edad de la población, densidad, dispersión y movimientos) son importantes en la comprensión de su papel como reservorios. Como se puede deducir por el conjunto de resultados, tanto nuestros como de otros autores, hay evidencias suficientes que sugieren que estos animales podrían mantener el parásito en determinadas áreas geográficas, aunque es difícil encontrar zonas sin perros que permitan, de una forma natural, evaluar este papel. El reservorio tiene que ser abundante y de hábitos gregarios, estas características las tienen los conejos y las liebres. Si bien estos animales viven menos que un perro, tiene una vida lo suficientemente larga como para garantizar la transmisión. La presencia del parásito en altas proporciones en la piel de estos animales, sin signos aparentes de enfermedad, asegura el contacto de *Leishmania* con el vector, que, además, encuentra en las madrigueras un biotopo adecuado para vivir. Aunque nuestros resultados muestran que el gato está infectado, la baja prevalencia obtenida no nos permite concluir que el gato se pueda considerar como un reservorio silvestre en este brote.

Por otra parte, los tratamientos farmacológicos, la utilización de vacunas y el uso en los perros de insecticidas, reducen considerablemente el papel del perro como reservorio, por lo que el papel de la fauna silvestre que vive en las proximidades de zonas de reciente urbanización, podría tener una gran importancia en el futuro y serían necesarias medidas de control y prevención específicas.

Todas estas razones demuestran la existencia de un ciclo silvestre y periurbano donde los mamíferos silvestres actúan como reservorios distintos de los perros, pudiendo ser una de las razones que justifiquen la aparición de nuevos brotes o un aumento del número de casos. Hay muchas evidencias que podrían sugerir la existencia de un ciclo silvestre periurbano de la enfermedad independiente del ciclo doméstico tradicional que implica a los perros, pudiendo superponerse los dos ciclos por proximidad.

Conclusiones

Nuestros resultados, y el conjunto de resultados obtenidos en el contexto del brote, muestran que los conejos y las liebres de la zona de estudio cumplen todos los requisitos que se postulan para que un animal sea considerado reservorio de una enfermedad: son animales gregarios, con un alto número de individuos, son longevos, pudiendo durar más de una estación de transmisión, su contacto con los flebotomos está asegurado, la infección en ellos es alta, es crónica, en muchos no aparecen síntomas y los aislados que se han caracterizado son iguales que en el hombre y el vector.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ WHO weekly epidemiological record. Urbanization: an increasing risk factor for leishmaniasis. No. 44, 2002, 77, 365–372.
- ² Alvar Ezquerro, J.P. (1997). En: La leishmaniasis: de la Biología al control. Junta de Castilla y León. Zamora.
- ³ Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol.* 28;165(1-2):1-18.
- ⁴ Baneth G, Aroch I. (2008). Canine leishmaniasis: a diagnostic and clinical challenge. *Vet J.*;175(1):14-5.
- ⁵ Michel G, Pomares C, Ferrua B, Marty P (2011). Importance of worldwide asymptomatic carriers of *Leishmania infantum* (*L. chagasi*) in human. *Acta Trop.*; 119(2-3):69-75.
- ⁶ Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, Ferrer L.(2001) Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. *J Clin Microbiol.*; 39(2):560-3.
- ⁷ Ferroglio E, Poggi M, Triscioglio A. (2008).Evaluation of 65% permethrin spot-on and deltamethrin-impregnated collars for canine *Leishmania infantum* infection prevention. *Zoonoses Public Health*; 55(3):145-8.
- ⁸ Quinnell RJ, Courtenay O.(2009).Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis.*Parasitology*;136(14):1915-34.
- ⁹ Rioux JA, Albaret JL, Houin R, Dedet JP, Lanotte G. (1968).Ecology of leishmaniasis in the south of France. 2. Sylvatic reservoirs. Spontaneous infestation of the fox (*Vulpes vulpes* L.). *Ann Parasitol Hum Comp*;43(4):421-8.
- ¹⁰ Molina R, Jiménez MI, Cruz I, Iriso A, Martín-Martín I, Sevillano O, Melero S, Bernal J. (2012).The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania infantum* in Spain..*Vet Parasitol.* ;190(1-2):268-71.
- ¹¹ Sobrino R, Ferroglio E, Oleaga A, Romano A, Millan J, Revilla M, Arnal MC, Triscioglio A, Gortázar C. (2008).Characterization of widespread canine leishmaniasis among wild carnivores from Spain. *Vet Parasitol.*;155(3-4):198-203.
- ¹² Millán J, Zanet S, Gomis M, Triscioglio A, Negre N, Ferroglio E. (2011) An investigation into alternative reservoirs of canine leishmaniasis on the endemic island of Mallorca (Spain). *Transbound Emerg Dis.* 58(4):352-7
- ¹³ Davoust B, Mary C, Marié JL. (2014).Detection of *Leishmania* in red foxes (*Vulpes vulpes*) from southeastern France using real-time quantitative PCR. *J Wildl Dis.* 50(1):130-2.
- ¹⁴ Del Río L, Chitimia L, Cubas A, Victoriano I, De la Rúa P, Gerrikagoitia X, Barral M, Muñoz-García CI, Goyena E, García-Martínez D, Fisa R, Riera C, Murcia L, Segovia M, Berriatua E. (2014). Evidence for widespread *Leishmania infantum* infection among wild carnivores in *L. infantum* periendemic northern Spain. *Prev Vet Med.* Mar;113(4):430-5.
- ¹⁵ Millán J, Ferroglio E, Solano-Gallego L. (2014) .Role of wildlife in the epidemiology of *Leishmania infantum* infection in Europe. *Parasitol Res.*; 13(6):2005-14.
- ¹⁶ Chitimia L, Muñoz-García CI, Sánchez-Velasco D, Lizana V, Del Río L, Murcia L, Fisa R, Riera C, Giménez-Font P, Jiménez-Montalbán P, Martínez-Ramírez A, Meseguer-Meseguer JM, García-Bacete I, Sánchez-Isarria MA, Sanchis-Monsonís G, García-Martínez JD, Vicente V, Segovia M, Berriatua E. (2011) Cryptic Leishmaniasis by *Leishmania infantum*, a feature of canines only? A study of natural infection in wild rabbits, humans and dogs in southeastern Spain. *Vet Parasitol.* 2011 181(1):12-6.
- ¹⁷ Moreno I, Álvarez J, García N, de la Fuente S, Martínez I, Marino E, Toraño A, Goyache J, Vilas F, Domínguez L, Domínguez M. (2014). Detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in sylvatic lagomorphs from an epidemic area of Madrid using the indirect immunofluorescence antibody test. *Vet Parasitol.* 31;199(3-4):
- ¹⁸ Jiménez M, González E, Martín-Martín I, Hernández S, Molina R., (2014). Could wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) be reservoirs for *Leishmania infantum* in the focus of Madrid, Spain?. *Vet Parasitol.*;202(3-4):296-300.
- ¹⁹ Gradoni L, Pozio E, Gramiccia M, Maroli M, Bettini S. (1983).Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VII. Studies on the role of the black rat, *Rattus rattus*, in the epidemiology of visceral leishmaniasis.*Trans R Soc Trop Med Hyg.* ; 77(4):427-31
- ²⁰ Pozio E, Maroli M, Gradoni L, Gramiccia M. (1985). Laboratory transmission of *Leishmania infantum* to *Rattus rattus* by the bite of experimentally infected *Phlebotomus perniciosus*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* ;79(4):524-6
- ²¹ Zanet S, Sposimo P, Triscioglio A, Giannini F, Strumia F, Ferroglio E. (2014). Epidemiology of *Leishmania infantum*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in *Rattus rattus* in absence of domestic reservoir and definitive hosts. *Vet Parasitol*;199(3-4).
- ²² Arce A, Estirado A, Ordobas M, Sevilla S, García N, Moratilla L, de la Fuente S, Martínez AM, Pérez AM, Aránquez E, Iriso A, Sevillano O, Bernal J, Vilas F. (2013). Re-emergence of leishmaniasis in Spain: community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill.* 25;18(30):20546.
- ²³ Chicharro C¹, Llanes-Acevedo IP, García E, Nieto J, Moreno J, Cruz I. (2013). Molecular typing of *Leishmania infantum* isolates from a leishmaniasis outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill.* 25;18(30):20545.
- ²⁴ Gálvez R, Miró G, Descalzo MA, Nieto J, Dado D, Martín O, Cubero E, Molina R Emerging trends in the seroprevalence of canine leishmaniasis in the Madrid region (central Spain). (2010). *Vet Parasitol*; 169(3-4):327-34
- ²⁵ Cruz I, Cañavate C, Rubio JM, Morales MA, Chicharro C, Laguna F, Jiménez-Mejías M, Sirena G, Videla S, Alvar J; Spanish HIV-*Leishmania* Study Group. (2002).A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum* infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* Apr;96 Suppl 1:S185-9
- ²⁶ Martín-Sánchez J¹, Acedo C, Muñoz-Pérez M, Pesson B, Marchal O, Morillas-Márquez F. (2007). Infection by *Leishmania infantum* in cats: epidemiological study in Spain. *Vet Parasitol.*;145(3-4):267-73.
- ²⁷ Maia C, Nunes M, Campino L. (2007). Importance of cats in zoonotic leishmaniasis in Portugal. *Vector Borne Zoonotic Dis*;8(4):555-9.7
- ²⁸ Sherry K, Miró G, Trotta M, Miranda C, Montoya A, Espinosa C, Ribas F, Furlanello T, Solano-Gallego L. (2011) A

- serological and molecular study of *Leishmania infantum* infection in cats from the Island of Ibiza (Spain). *Vector Borne Zoonotic Dis.*;11(3):239-45.
- ²⁹ García N, Moreno I, Alvarez J, de la Cruz ML, Navarro A, Pérez-Sancho M, García-Seco T, Rodríguez-Bertos A, Conty ML, Toraño A, Prieto A, Domínguez L, Domínguez M. (2014). Evidence of *Leishmania infantum* infection in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in a natural area in Madrid, Spain. *Biomed Res Int.*:318254
- ³⁰ Díaz-Sáez V, Merino-Espinosa G, Morales-Yuste M, Corpas-López V, Pratlong F, Morillas-Márquez F, Martín-Sánchez J. (2014). High rates of *Leishmania infantum* and *Trypanosoma nabiasi* infection in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in sympatric and syntrophic conditions in an endemic canine leishmaniasis area: epidemiological consequences. *Vet Parasitol.*28;202(3-4):119-27.
- ³¹ Ruiz-Fons F, Ferroglio E, Gortázar C. (2013). *Leishmania infantum* in free-ranging hares, Spain, 2004-2010. *Euro Surveill.*25;18(30):20541.

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA LEISHMANIOSIS MEDIANTE LA TÉCNICA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

Inmaculada Moreno¹, Nerea García², María Luisa de la Cruz², Irene Martínez², Pilar Pozo², Álvaro Fernández³, José Antonio Infantes¹, Antonio Rodríguez³, Lucas Domínguez² y Mercedes Domínguez¹

¹ Unidad de Inmunología Microbiana, Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

² Servicio de Zoonosis Emergentes, de Baja Prevalencia y Agresivos Biológicos. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET). Universidad Complutense de Madrid. ³ Servicio de Patología y Veterinaria Forense. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET). Universidad Complutense de Madrid.

Resumen

La epidemiología de la Leishmaniasis es muy compleja. En la leishmaniasis producida por *L. infantum* son muchos los animales, tanto salvajes como domésticos, que contribuyen junto al perro, considerado el principal reservorio, al mantenimiento del parásito. Prueba de ello es que durante el último brote que ha tenido lugar en la Comunidad de Madrid (2009-2015) se han descrito por vez primera como reservorios del parásito a los lagomorfos (liebres y conejos). Es pues de gran importancia un buen programa de vigilancia epidemiológica para atajar este problema de salud pública. Ello pasaría por detectar el parásito en especies animales distintas de las convencionales. Para identificar estos posibles reservorios se está llevando a cabo un estudio serológico mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en mamíferos capturados en la Comunidad de Madrid. Hasta el momento se han analizado un total de 1.594 muestras procedentes de zorros (*Vulpes vulpes*), mapaches (*Procyon lotor*), liebres (*Lepus granatensis*), jabalíes (*Sus scrofa*), gamos (*Cervus dama*), conejos (*Orytolagus cuniculus*), ciervos (*Cervus elaphus*) y gatos (*Felis catus*). Este estudio ha permitido identificar, además de lagomorfos, un zorro y un jabalí como seropositivos frente a *Leishmania*. También hemos observado como desde el año 2013 hasta la actualidad, se ha

producido una disminución en la seropositividad de las especies que estaban actuando como reservorios, produciéndose una disminución del 90% en lagomorfos y del 75% en gatos.

Introducción

La leishmaniasis puede tener origen antropológico o zoonótico. En el primer caso el reservorio de la enfermedad es el hombre y en el segundo los reservorios son animales salvajes y domésticos. En el ciclo zoonótico habitualmente están incluidas un pequeño número de especies de flebotomo y una especie de hospedador vertebrado que, en un foco determinado, actúa como reservorio principal del parásito. En la misma área podría tener lugar la infección de otros mamíferos que, sin participar activamente en la transmisión de la enfermedad, ayudan al mantenimiento de la misma.

Los animales que actúan como reservorios pueden o no presentar sintomatología, suelen tener una carga parasitaria baja y una baja respuesta inmunitaria. Una excepción sería cuando el perro actúa como reservorio de *L. infantum*, ya que en este caso, la enfermedad cursa con graves síntomas e incluso puede conllevar a la muerte del animal¹.

Para definir un mamífero como reservorio de *Leishmania* se tienen que cumplir una serie de ca-

racterísticas: a) el huésped reservorio tiene que ser suficientemente abundante y longevo para proporcionarle a los vectores, los flebotomos, una fuente importante de alimento, b) es necesario un contacto intenso entre el huésped reservorio y los flebotomos, c) la proporción de individuos que se infectan a lo largo de su vida suele ser considerable, aunque la prevalencia puede variar mucho según la estación, d) el curso de la infección en el reservorio debe ser suficientemente prolongado y la infección suficientemente no patógena para permitir que los parásitos sobrevivan a una estación sin transmisión y e) los parásitos deben estar presentes en la piel o la sangre en número suficiente para poder ser transmitidos a los flebotomos¹.

Para confirmar que un animal actúa como huésped reservorio, los parásitos identificados en él tienen que ser los mismos que los identificados en el hombre. Se pueden emplear métodos moleculares o serológicos para analizar un gran número de animales pero, finalmente, solo será el aislamiento y la identificación del parásito aislado lo que determina indefectiblemente el que un animal esté actuando o no como reservorio en un momento determinado.

Los huéspedes reservorios de *Leishmania* pertenecen a diversos géneros de mamíferos, cuya identidad varía según la región geográfica donde se desarrolla el ciclo enzoótico del parásito. En el Viejo Mundo los reservorios naturales son cánidos silvestres (lobo, chacal, zorros) y roedores. Entre éstos, algunos géneros del orden Rodentia son reservorios animales contrastados de *Leishmania*: el gran jerbo (*Rhombomys opimus*) reservorio de *L. major* en Asia Central², el merión (*Meriones libycus*) reservorio de *L. major* en Irán, Israel, Arabia Saudita, Libia³, el hyrax (*Procavia capensis*) reservorio de *L. tropica* en la región de Galilea (Israel)⁴, y de *L. aethiopica* en Etiopía y Kenia⁵. En el Nuevo Mundo los reservorios naturales son animales silváticos: marsupiales (zarigüeyas, perezosos), zorros y roedores⁶, pero el papel de estas especies en el ciclo de *L. infantum* no está claro. La proximidad del perro doméstico al hombre le convierte en el principal reservorio secundario del parásito para humanos. Además, se han descrito infecciones por *Leishmania* en animales domésticos que pueden comportarse como reservorios accidentales del parásito: el asno⁷, el caballo⁸, el gato⁹, el pollo¹⁰ y otros¹¹.

Durante el brote de leishmaniasis que comenzó en la Comunidad de Madrid en el 2009 y que persiste en la actualidad, se han notificado 560 casos de leishmaniasis humana. De ellas un 38,0% corresponden a leishmaniasis visceral y un 62,0% a leishmaniasis cutánea¹². En ningún momento se observó un aumento en la prevalencia de la leishmaniasis canina, siendo esto lo que indujo a pensar en la existencia de otra especie implicada como huésped reservorio. Tras comprobar que los animales más abundantes de la zona, la liebre ibérica (*Lepus granatensis*), estaban infectados, se concluyó, tras un laborioso

estudio, que los mismos eran el nuevo reservorio competente de la enfermedad¹²⁻¹⁵. La infección por *L. infantum* en liebres se diagnosticó mediante el análisis de PCR y detección de anticuerpos específicos mediante IFI¹⁴ y su capacidad de transmitir el parásito a mosquitos (*P. perniciosus*) fue demostrada por estudios de xenodiagnóstico¹⁵. Análisis posteriores de detección de ADN en bazo de animales procedentes de otras áreas geográficas de nuestro país, han arrojado una prevalencia de infección por *L. infantum* del 43,6%, en dos especies de liebre (*L. granatensis* y *L. europaeus*)¹⁶. Analizando otros posibles reservorios en la zona del brote de la Comunidad de Madrid, se describió una seropositividad del 46% en conejos¹⁴. Además de los animales analizados, en un 13% de ellos se aisló e identificó el parásito a partir de muestras de bazo¹⁷. Todo esto indica que los lagomorfos constituyen un nuevo reservorio de la enfermedad a los que, además, se les atribuye un papel preponderante en el brote último de leishmaniasis de la Comunidad de Madrid.

Para identificar estos posibles reservorios, el Servicio de Enfermedades Emergentes, de Baja Prevalencia y Agresivos Biológicos del Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET) y la Unidad de Inmunología Microbiana del Instituto de Salud Carlos III, junto con la Comunidad de Madrid, están llevando a cabo un estudio serológico mediante la técnica de IFI en mamíferos capturados en esta Región.

El IFAT (Immuno Fluorescence Antibody Test) o IFI es un inmunoensayo de doble capa donde un anticuerpo primario, sin marcar, reconoce un antígeno que se encuentra fijado a un portaobjetos (figura 1). Para determinar la presencia del anticuerpo primario empleamos un anticuerpo secundario, normalmente un anticuerpo policlonal, marcado con isotiocianato de fluoresceína. La observación al microscopio de fluorescencia permite detectar una reacción positiva por la aparición de un color amarillo-verdoso fluorescente.

Es una de las técnicas serológicas más empleadas en el diagnóstico de leishmaniasis y es el ensayo recomendado por la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) para el diagnóstico serológico de la leishmaniasis canina¹⁸. Birds and Bees. Se estima que la sensibilidad está entre el 87 y el 100% y la especificidad entre 77 y el 100%¹⁹, lo cual constituye su principal ventaja. La forma promastigote es el antígeno usualmente empleado para el tapizado de los portaobjetos. La principal desventaja de la técnica es la necesidad de emplear un microscopio de fluorescencia para la lectura del resultado, así como una persona con formación y experiencia en la interpretación de los resultados ya que, algunas veces, pueden resultar dudosos, sobre todo cuando el animal tiene un bajo título de anticuerpos, bien porque esté en un momento temprano de la infección o bien porque sean anticuerpos que persisten tras la curación²⁰. Otro de los inconvenientes que se

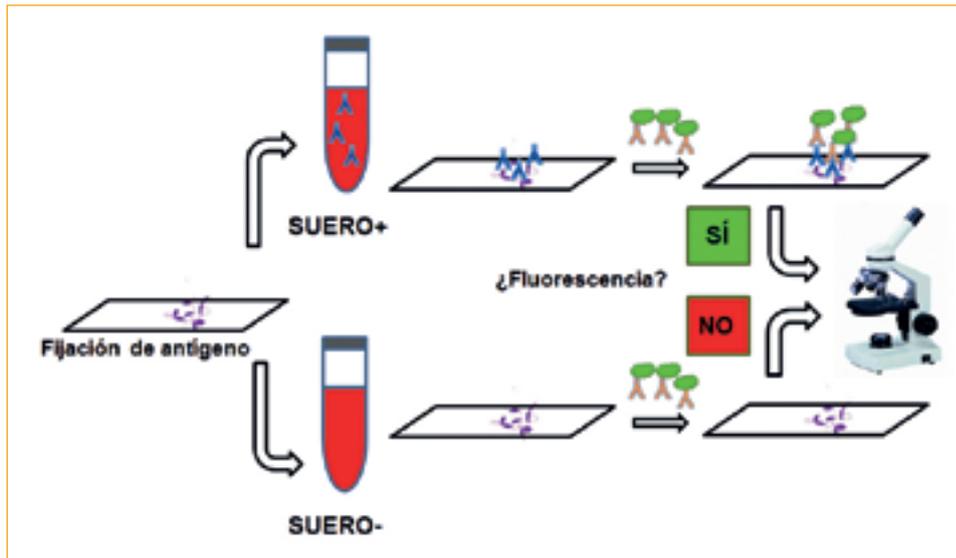


Figura 1. Representación esquemática de la técnica de IFI.

plantea, cuando se analizan especies exóticas, es la disponibilidad de anticuerpos secundarios frente a inmunoglobulinas de estas especies. Considerando globalmente las ventajas e inconvenientes, se seleccionó la IFI como técnica a utilizar en el este estudio de vigilancia epidemiológica.

Materiales y métodos

Durante el periodo de estudio se analizaron un total de 1.594 muestras procedentes de zorros (*Vulpes vulpes*), mapaches (*Procyon lotor*), liebres (*Lepus granatensis*), jabalíes (*Sus scrofa*), gamos (*Cervus dama*), conejos (*Orytolagus Cuniculus*), ciervos (*Cervus elaphus*) y gatos (*Felis catus*). La recepción de estas muestras se llevó a cabo en el centro VISAVET. De todas las especies animales, excepto los lepóridos, se recibió el suero o una porción del hígado. En el caso de liebres y conejos se recibieron los cadáveres de los animales o bien fueron eutanasiados en el Centro VISAVET, donde se realizó la necropsia y la toma de muestras para posteriores análisis. Para realizar la técnica de IFI se empleó preferentemente suero. En los casos en los que no se pudo disponer de esta muestra se obtuvo exudado tras la congelación/descongelación de una porción del hígado²¹.

Para la realización del IFI se prepararon los portaobjetos en la Unidad de Inmunología del ISCIII empleando promastigotes de *L. infantum* (M/CAN/ES/97/10445) zymodeme MON-1 obtenidos a partir de bazos de hámsteres infectados. Para desarrollar la infección, a los animales se les administró un inóculo de 10^9 promastigotes de *L. infantum* 10445 por vía peritoneal. A los treinta días post-infección se sacrificó el animal y se extrajo el bazo. El órgano se prensó empleando un homogeneizador de vidrio para tejidos y el macerado resultante se puso en cultivo a 26 °C en medio Novy-McNeal-Nicolle. Cuando se observó la aparición de las formas promastigotes,

los parásitos se cultivaron y expandieron en medio RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal al 10% (inactivado térmicamente a 60 °C durante 30 minutos), glutamina (2mM), penicilina (100 UI/ml) y estreptomycin (100 µg/ml). Es importante utilizar promastigotes que procedan de cultivo axénico de no más de 10 pases, ya que se ha demostrado que afecta a la morfología, virulencia y expresión de antígenos inmunodominantes que pueden dar lugar a la aparición de falsos negativos¹⁴.

Cuando el cultivo alcanzó la fase de crecimiento estacionario, 1 ml del mismo se añadió sobre 9 ml de medio completo y se cultivaron hasta alcanzar de nuevo la fase de crecimiento estacionario. Para preparar los portaobjetos empleados en IFI, los promastigotes se recolectaron por centrifugación (1.500 x g, 20 °C, 15 min), se lavaron dos veces en RPMI 1640 y se ajustaron a 20×10^7 células/ml. Los pocillos del portaobjetos (4 mm de diámetro), se recubrieron con 10 µl de esta preparación ($0,6 \times 10^6$ promastigotes/pocillo) se dejaron secar y se fijaron con acetona: metanol (1: 1, v / v; 10 min, -20 °C). Una vez fijados se almacenaron a -20 °C hasta el momento de su utilización. Cada lote de portaobjetos es analizado en el laboratorio antes de su empleo con una mezcla de sueros de referencia positivos y negativos de perro. En todos los portaobjetos empleados para estos análisis se alcanza al menos un título de 1/200 con el control positivo de referencia.

Los sueros de los animales fueron analizados a dilución 1/25 y los exudados a una dilución 1/6. 10 µl de cada una de las diluciones se incubaron en un pocillo del portaobjetos durante 30 min a 37 °C. Transcurrido el tiempo de incubación los portaobjetos se sometieron a 3 lavados consecutivos con PBS durante 10 minutos y se incubaron con 10 µl del anticuerpo secundario correspondiente suplementado con azul de Evans (40 µg/ml) durante 30 min a 37 °C. Para finalizar, los portaobjetos se lavaron tres veces en PBS duran-

te 10 min cada lavado y uno rápido de 15 seg con agua destilada. Finalmente, se cubrieron con Fluoromount-G® (Southern Biotech). La reactividad de los sueros se observó empleando un microscopio de fluorescencia ZEISS Axioskop 40. Las muestras que presentaron reactividad se sometieron posteriormente a un análisis a diluciones 1/50 y 1/100 si eran sueros y 1/12, 1/24 y 1/48 si eran exudados. Se consideran positivos los sueros que son reactivos a la dilución 1/50 o mayor y a aquellos exudados que lo eran a la dilución 1/12 o mayor. Si los sueros a una dilución 1/25 o los exudados a una dilución 1/6 presentaban cierta reactividad, que desaparecía a la dilución 1/50 y 1/12 respectivamente, estos sueros y exudados eran considerados como dudosos. Para el control positivo de ensayo se emplearon sueros caracterizados en la Unidad de Inmunología Microbiana. Como control negativo de ensayo se emplearon sueros de animales controles procedentes de VISAVET (figura 2).

Como anticuerpos secundarios se emplearon:

Para liebres y conejos: suero policlonal de cabra frente a inmunoglobulinas de conejo marcado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Southern Biotech Ref: 4050-02).

Para zorros: suero policlonal de cabra frente a inmunoglobulinas de perro marcado con FITC (Alpha Diagnostic Ref:30821-F) que presenta reactividad cruzada frente a las inmunoglobulinas de zorro.

Ciervos y gamos: suero policlonal de conejo frente a inmunoglobulina de ciervo marcado con FITC (KPL Ref:02-31-06).

Jabalíes: suero policlonal de cabra frente a inmunoglobulinas de cerdo marcado con FITC (SERO-TEC Ref: AHP865F).

Mapaches: suero policlonal de conejo frente a inmunoglobulinas de mapache marcado con FITC. Este suero fue obtenido por el equipo de desarrollo de anticuerpos monoclonales y policlonales de la Unidad de Inmunología Microbiana del ISCIII. Para ello se procedió a la purificación de la fracción total de inmunoglobulinas a partir de suero normal de mapache mediante columnas HiTrap Protein G (HP Ref: 17-0404-01). El conejo se sometió a tres inmunizaciones con 250 µg de inmunoglobulina purificada, la primera de ellas en adyuvante completo de Freund y las dos posteriores en adyuvante incompleto. Tras la tercera inmunización se obtuvo una muestra de suero cuya reactividad se midió por Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) indirecto frente a inmunoglobulinas purificadas, alcanzado un título de 1/25.000. El animal fue sacrificado y a partir del suero se procedió a la purificación de los anticuerpos mediante columna de proteína G. Un miligramo de esta preparación se marcó con Isotiocianato de fluoresceína siguiendo la metodología descrita por Goding [22]. J.W. </Authors_Primary><Date_Primary>2004</Date_Primary><Keywords>Antibodies</Keywords><Reprint>On Request //</Reprint><Publisher>Academic Press</Publisher><ZZ_WorkformID>33</ZZ_WorkformID></MDL></Cite></Refman>.

Resultados

Como se muestra en las tablas 1 y 2, desde el año 2010 a la actualidad, se han analizado por IFI un total de 1.594 muestras tanto de suero como de exudado procedente de 8 especies diferentes de animales

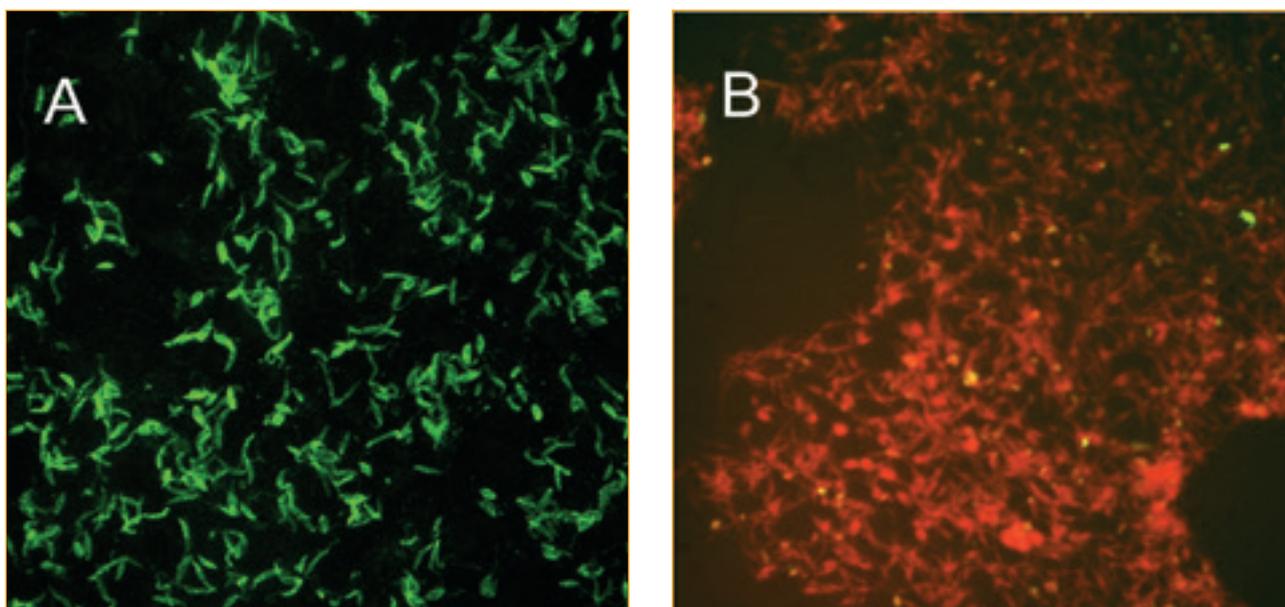


Figura 2. Imagen que obtenemos al observar al microscopio óptico de fluorescencia la reactividad frente a promastigotes de *L. infantum* de un suero de conejo positivo (A) y negativo (B).

Tabla 1
RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS POR IFI FRENTE A PROMASTIGOTES DE LEISHMANIA

ESPECIE	N° TOTAL	EXUDADOS			SUEROS		
		Positivos	Negativos	Dudosos	Positivos	Negativos	Dudosos
Zorros	39	1	31	0	0	7	0
Mapaches	56	0	54	0	0	2	0
Liebres	155	12	49	6	24	44	20
Jabalíes	31	0	7	0	1	23	0
Gamos	5	0	3	0	0	2	0
Conejos	531	24	403	23	7	68	6
Ciervos	11	0	6	0	0	5	0
Gatos	766	0	3	0	21	675	67

capturados en distintas áreas de la Comunidad de Madrid.

Se han analizado un total de 39 muestras procedentes de zorros, de las cuales 32 eran exudados y 7 eran sueros. Únicamente un exudado en el año 2012 fue positivo por IFI, con un título de anticuerpos de 1/12, aunque no pudo realizarse una PCR que confirmara el diagnóstico.

De los 56 mapaches analizados la mayoría de ellos correspondían a muestras de exudado (97%) y todos ellos fueron negativos por IFI.

Se han analizado 24 sueros y 7 exudados procedentes de jabalíes (31 muestras), entre las cuales confirmamos que el suero de un animal tenía un título de anticuerpos anti-*Leishmania* 1/100, aunque la PCR realizada en bazo fue negativa.

Se examinaron también 5 gamos (3 exudados y 2 sueros) y 11 ciervos (6 exudados y 5 sueros), los cuales han resultado ser todos negativos.

En cuanto a los gatos, especie que se consideraba segunda en importancia como reservorio después del perro, hemos aplicado esta técnica de diagnóstico a un total de 766 animales, la mayoría de ellos (99%) eran muestras de suero y únicamente hemos obtenido un 2,7% de animales positivos, 8,8 % de animales dudosos y el resto (88,5%) han sido negativos.

Por último, se han analizado un total de 686 muestras de lagomorfos: 531 conejos y 155 liebres. De los conejos, 450 fueron exudados y 88 fueron sueros. El porcentaje de animales positivos fue 5,8 %, dudosos 5,5 % y 88,7 % negativos.

De las 155 liebres, 67 fueron exudados y 88 sueros. El porcentaje de positivos fue 23,2%, dudosos 16,8% y 60% negativos.

Desde el año 2013 se han incluido los datos de edad y sexo de los lagomorfos y gatos recibidos en el Centro VISAVET para poder analizar más exhaustivamente los resultados. La edad de los animales se determinó mediante la palpación/observación detallada del cúbito de las patas anteriores, procedimiento que únicamente permite

Tabla 2
PORCENTAJE DE SEROPOSITIVIDAD

ESPECIE	% Positivos	% Negativos	% Dudosos
Zorros	2,5	97,5	0
Mapaches	0	100	0
Liebres	23,2	60	16,8
Jabalíes	3,2	96,8	0
Gamos	0	100	0
Conejos	5,8	88,7	5,5
Ciervos	0	100	0
Gatos	2,7	88,5	8,8

diferenciar entre juveniles y adultos (a partir de los 9 meses). El sexo fue determinado mediante observación de los genitales externos. Ello nos ha permitido realizar un análisis de la seropositividad en función tanto del sexo como de la edad de los animales.

En la tabla 3 se analiza la distribución de reactividades según edad y sexo a lo largo de estos tres años. En ninguna de las especies analizadas, ni en ninguno de los años, tras realizar el análisis estadístico de la distribución de los positivos en función del sexo, este dato resultó significativo (Test exacto de Fisher, $p > 0,05$), es decir, existe el mismo riesgo de presentar la infección en machos que en hembras. Respecto a la edad, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ejemplares adultos y jóvenes (Test exacto de Fisher, $p > 0,05$). En algunos casos la falta de significancia del test se debe al reducido número de muestras con las que contamos.

Se ha comparado la situación de seropositividad actual en conejos, liebres y gatos con la registrada en 2013 y 2014, lo que nos permite decir que en lagomorfos se ha producido un descenso de la tasa de animales seropositivos (tabla 4 y figura 3).

Tabla 3

PORCENTAJE DE SEROPOSITIVOS/SERONEGATIVOS EN FUNCIÓN DE LA EDAD Y EL SEXO DE LOS ANIMALES.

	2013			2014			2015		
	Positivos	Negativos	Dudosos	Positivos	Negativos	Dudosos	Positivos	Negativos	Dudosos
Conejos	(n=20)	(n=37)	(n=3)	(n=4)	(n=180)	(n=5)	(n=6)	(n=190)	(n=14)
Jóvenes	30	48,6	33,3		30	20	50	61,57	50
Adultos	40	43,2	66,7	100	70	80	50	31,67	50
Sin datos	30	8,1						6,84	
Hembras	35	54,1	66,7	100	60,6	20	33,3	48,42	78,56
Machos	35	37,8	33,3		39,4	80	66,6	44,21	21,42
Sin datos	30	8,1						7,36	
Liebres	(n=12)	(n=52)	(n=7)		(n=16)				
Jóvenes	8,3	23,1							
Adultos	75	69,2	85,7		100				
Sin datos	16,7	7,7	14,3						
Hembras	25	38,5	57,1		62,5				
Machos	58,3	53,8	28,6		37,5				
Sin datos	16,7	7,7	14,3						
Gatos	(n=7)	(n=164)	(n=9)	(n=2)	(n=205)	(n=5)	(n=2)	(n=46)	(n=9)
Jóvenes					7,3		50	10,3	11,1
Adultos	42,9	62,2	55,6	50	78	100	50	89,6	88,8
Sin datos	57,1	37,8	44,4	50	14,6				
Hembras	42,9	26,83	22,2	50	46,3	40	100	55,72	44,5
Machos		39,02	33,3	50	42	60		44,82	55,5
Sin datos	57,1	34,15	44,4					3,44	

Tabla 4

PORCENTAJE DE SEROPOSITIVIDAD DE CONEJOS, LIEBRES Y GATOS EN LOS ÚLTIMOS TRES AÑOS.

Especie	2013	2014	2015
Conejos	33,3	2,1	2,86
Liebres	16,9	0	--
Gatos	3,9	0,9	3,51

Consideraciones finales

En cualquier enfermedad infecciosa o parasitaria que constituya un problema de salud pública, como es el caso de la leishmaniasis, si queremos controlar y llegar a erradicar la enfermedad, es esencial localizar a los animales portadores que están actuando como reservorios.

La epidemiología de *L. infantum* es más compleja de lo que se pensaba hasta el momento. En el ciclo parasitario están irrumpiendo otras especies animales, tanto domésticas como salvajes, que colaboran con el perro en el mantenimiento de la enfermedad, de ahí la importancia de un buen programa de vigilancia epidemiológica que nos permita detectar la presencia del parásito en especies animales distintas de las convencionales.

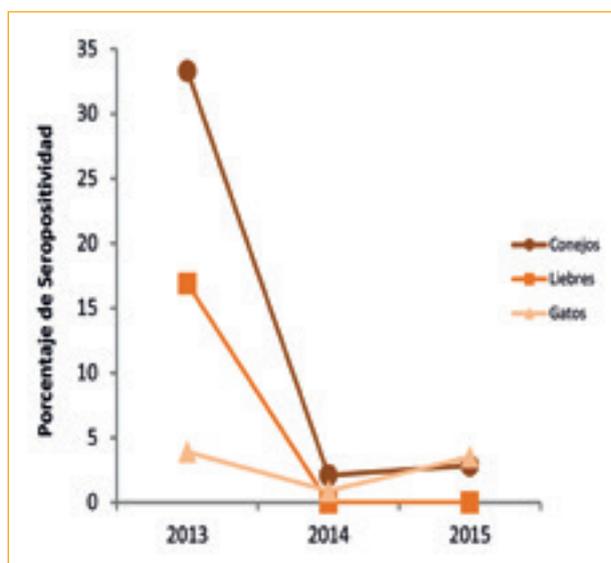


Figura 3. Tendencia temporal de la seropositividad frente a *L. infantum*: en la figura se muestra el porcentaje de seropositividad de gatos (▲) liebres (■) y conejos (●) capturados en la Comunidad de Madrid entre los años 2013 y 2015.

En el plan de vigilancia llevado a cabo por la Comunidad de Madrid dentro del Contrato "Análisis para la vigilancia y el control en la Comunidad de

Madrid de las zoonosis en fauna silvestre y otros agentes infecciosos transmitidos por vectores” entre la actual Dirección General de Salud Pública de la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid y el Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET) de la Universidad Complutense de Madrid (UCM), en el que participa la Unidad de Inmunología Microbiana del Instituto de Salud Carlos III, la técnica IFI ha sido elegida como la técnica para

realizar el primer cribado diagnóstico de animales que han tenido contacto con el parásito por su sencillez, especificidad y coste. Una vez desarrollada esta herramienta, animamos a los gestores a utilizarla para la vigilancia de la enfermedad y para establecer series temporales que ayuden a conocer cómo evoluciona el contacto con el parásito en el medio natural y de esta forma ampliar el conocimiento de la epidemiología de esta zoonosis.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Control of the Leishmaniasis (Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis: 2010.
- ² Rassi Y, Abai MR, Javadian E, Rafizadeh S, Imamian H, Mohebbali M, Fateh M, Hajjaran H, Ismaili K: Molecular data on vectors and reservoir hosts of zoonotic cutaneous leishmaniasis in central Iran. *Bull Soc Pathol Exot* 2008;101:425-428.
- ³ Pourmohammadi B, Motazedian MH, Kalantari M: Rodent infection with *Leishmania* in a new focus of human cutaneous leishmaniasis, in northern Iran. *Ann Trop Med Parasitol* 2008;102:127-133.
- ⁴ Svobodova M, Votypka J, Peckova J, Dvorak V, Nasereddin A, Baneth G, Szttern J, Kravchenko V, Orr A, Meir D, Schnur LF, Volf P, Warburg A: Distinct transmission cycles of *Leishmania tropica* in 2 adjacent foci, Northern Israel. *Emerg Infect Dis* 2006;12:1860-1868.
- ⁵ Navea-Perez HM, Diaz-Saez V, Corpas-Lopez V, Merino-Espinosa G, Morillas-Marquez F, Martin-Sanchez J: *Leishmania infantum* in wild rodents: reservoirs or just irrelevant incidental hosts? *Parasitol Res* 2015;114:2363-2370.
- ⁶ Ashford RW: The leishmaniasis as emerging and re-emerging zoonoses. *Int J Parasitol* 2000;30:1269-1281.
- ⁷ Cerqueira EJ, Sherlock I, Gusmao A, Barbosa Junior AA, Nakatani M: [Experimental infection of *Equus asinus* with *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937]. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003;36:695-701.
- ⁸ Rolao N, Martins MJ, Joao A, Campino L: Equine infection with *Leishmania* in Portugal. *Parasite* 2005;12:183-186.
- ⁹ Mancianti F: [Feline leishmaniasis: what's the epidemiological role of the cat?]. *Parassitologia* 2004;46:203-206.
- ¹⁰ Alexander B, de Carvalho RL, McCallum H, Pereira MH: Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerg Infect Dis* 2002;8:1480-1485.
- ¹¹ Pennisi MG: Leishmaniasis of companion animals in Europe: an update. *Vet Parasitol* 2015;208:35-47.
- ¹² Subdirección de Promoción de la Salud y Prevención: Leishmaniasis en la Comunidad de Madrid; 2014.
- ¹³ Arce A, Estirado A, Ordobas M, Sevilla S, Garcia N, Moratilla L, de la Fuente S, Martinez AM, Perez AM, Aranguéz E, Iriso A, Sevillano O, Bernal J, Vilas F: Re-emergence of leishmaniasis in Spain: community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill* 2013;18:20546.
- ¹⁴ Moreno I, Alvarez J, Garcia N, de la Fuente S, Martinez I, Marino E, Torano A, Goyache J, Vilas F, Dominguez L, Dominguez M: Detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in sylvatic lagomorphs from an epidemic area of Madrid using the indirect immunofluorescence antibody test. *Vet Parasitol* 2014;199:264-267.
- ¹⁵ Molina R, Jimenez MI, Cruz I, Iriso A, Martin-Martin I, Sevillano O, Melero S, Bernal J: The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania infantum* in Spain. *Vet Parasitol* 2012;190:268-271.
- ¹⁶ Ruiz-Fons F, Ferroglio E, Gortazar C: *Leishmania infantum* in free-ranging hares, Spain, 2004-2010. *Euro Surveill* 2013;18:20541.
- ¹⁷ Garcia N, Moreno I, Alvarez J, de la Cruz ML, Navarro A, Perez-Sancho M, Garcia-Seco T, Rodriguez-Bertos A, Conty ML, Torano A, Prieto A, Dominguez L, Dominguez M: Evidence of *Leishmania infantum* infection in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in a natural area in Madrid, Spain. *Biomed Res Int* 2014;2014:318254.
- ¹⁸ OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammal, Birds and Bees) (Chapter 2.1.8): 2008.
- ¹⁹ Elmahallawy EK, Sampedro MA, Rodriguez-Granger J, Hoyos-Mallecot Y, Agil A, Navarro Mari JM, Gutierrez FJ: Diagnosis of leishmaniasis. *J Infect Dev Ctries* 2014;8:961-972.
- ²⁰ Alvar J: Las Leishmaniasis: de la Biología al Control; 2001.
- ²¹ Le Gall-Recule G, Zwingelstein F, Portejoie Y, Le GG: Immunocapture-RT-PCR assay for detection and molecular epidemiology studies of Rabbit Haemorrhagic Disease and European Brown Hare Syndrome viruses. *J Virol Methods* 2001;97:49-57.
- ²² Goding JW: Monoclonal Antibodies: principles and practice; Academic Press, 2004.

EL PAPEL DE LOS ANIMALES DE COMPAÑÍA COMO RESERVORIO

Eloy Marino¹, Santiago de la Fuente¹, Ana Junco¹ y Mercedes Perote²

¹Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

²Dirección General de Agricultura y Ganadería. Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio. Comunidad de Madrid.

Introducción

A raíz del aumento inusual de casos notificados al Sistema de Vigilancia de Enfermedades de Declaración Obligatoria en el Área 9 de la Comunidad de Madrid durante el último trimestre de 2010 y primero de 2011 (tabla 1), la Consejería de Sanidad puso en marcha una serie de medidas tendentes a esclarecer cuál o cuáles podrían ser los motivos de este aumento significativo de casos en la población humana.

En primer lugar se establecieron medidas tendentes a analizar los sistemas de vigilancia existentes en el perro, principal reservorio descrito hasta la fecha en la bibliografía como transmisor de esta parasitosis, y en un segundo plano el gato, con el fin de determinar el posible papel que pudieran estar jugando en este brote.

Los Veterinarios Oficiales de Salud Pública del Área 9 realizaron visitas a las clínicas veterinarias de la zona con el fin de recabar información de primera mano de los clínicos de la zona. Se les entrevistó

personalmente y se les realizó una encuesta con el fin de determinar el posible incremento de esta zoonosis en el reservorio doméstico.

Así mismo se les facilitó la posibilidad de realizar determinaciones de suero sanguíneo y de médula ósea para el análisis laboratorial del parásito, en colaboración con el ISC III.

Igualmente se aprovechó la campaña antirrábica anual, coordinada por el Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid (COVM), con el fin de determinar la presencia o no de la enfermedad de manera aleatoria en los perros mayores de 6 meses que acudían a dicha vacunación.

También se analizó, en colaboración con la Dirección General de Agricultura y Ganadería, la situación de aquellos perros denominados "de riesgo", por el medio en el que vivían: rehalas, explotaciones ganaderas y residencias caninas.

A continuación se describe el resultado de estas actuaciones, así como de las posteriores acciones.

Tabla 1
CASOS DE LEISHMANIASIS HUMANA. Comunidad de Madrid 2000 - 2014

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Casos totales de leishmaniasis humana	31	31	25	24	32	25	24	21	42	29	106	228	216	130	103
Tasa de incidencia	0,61	0,57	0,45	0,42	0,55	0,42	0,4	0,35	0,67	0,45	1,64	3,51	3,32	2,00	1,59

Fuente: Servicio de Epidemiología. Dirección General de Atención Primaria. Consejería de Sanidad CM. Información actualizada en enero de 2014

Resultados del cuestionario realizado a las clínicas veterinarias del Área IX en relación a la Leishmaniasis

A finales de 2012 se realizó una encuesta de manera voluntaria a clínicas veterinarias de Fuenlabrada, Leganés, Humanes de Madrid y Moraleja de Enmedio, con el fin de obtener información de los casos diagnosticados en las mismas (Anexo 1). Participaron un total de 29 clínicas, siendo el inicio de un proyecto de Sistema de Clínicas Veterinarias Centinela, de las cuales el 40% pertenecen al municipio de Fuenlabrada, el 30% a Leganés, el 20% a Humanes de Madrid y el 10% a Moraleja de Enmedio.

Los resultados más relevantes de la encuesta son los siguientes:

Situación de la enfermedad

El 50% de las clínicas atiende a más de 1.000 perros al año.

El número de casos de leishmaniasis atendido anualmente varía de 0 a 25 por clínica durante los años 2009 a 2012. El total de perros diagnosticados positivamente fue de 45 en 2009, 38 en 2010, 46 en 2011 y 41 en 2012. Una sola clínica acapara entre el 45% y el 60% de todos los casos cada año.

Solo el 30% de los clínicos dicen observar una estacionalidad en la aparición de casos: dos tercios de ellos lo asocian a los meses de mayo, junio, julio y agosto, mientras que el tercio restante lo asocia a los meses de febrero y marzo.

Los casos positivos de leishmaniasis suponen menos de un 2% del total de pacientes atendidos en cada una de las clínicas, excepto para una de ellas, para la que supone el 13% de su clientela.

El cuadro sintomático más frecuente, con el 60%, es el mixto (cutáneo y sistémico). El cuadro únicamente cutáneo se presenta en el 30%, el cuadro únicamente sistémico se presenta solamente en el 10%. Hay un 30% de casos en el que la enfermedad es asintomática. No se recoge ningún caso con otra sintomatología. Respuesta múltiple.

Otras enfermedades asociadas con frecuencia a la leishmaniasis son insuficiencia renal (40%), dermatopatías (40%), erlichiasis (30%), cojeras (20%) y otras (10%) como emaciación, anorexia y artrosis. Respuesta múltiple.

En ninguna clínica se han observado casos simultáneos de leishmaniasis humana y canina.

Diagnóstico

El diagnóstico por medio de frotis y tinción se ha usado en el 30% de las clínicas. En 2/3 partes de ellas se ha realizado por medio de punción ganglionar y en 1/3 por medio de punción medular.

El diagnóstico por medios serológicos se ha usado en el 100% de las clínicas. La mayoría de ellas utilizan varios métodos: el 90% de ellas ha usado in-

munofluorescencia indirecta (IFI), el 80% ha usado un kit comercial (Speed Leish K, Virbac, Ingenasa o IDEXX) y solo un 30% ha usado el método ELISA. Respuesta múltiple.

El 50% de las clínicas ha usado, además, otras técnicas de diagnóstico. El 100% de ellas PCR en sangre. Un 20% de ellas ha usado PCR en médula y el mismo porcentaje histopatología de lesiones cutáneas.

Todas trabajan con algún laboratorio externo en alguna de las fases diagnósticas. El 50% con Dr. Barba y el 30% con DLV, el resto con CIAB, IDEXX y Labipath.

Tratamiento

Sólo un 10% de los clínicos utiliza a veces únicamente antimoniales para el tratamiento. Un 30% utiliza a veces únicamente alopurinol y sólo un 10% los utiliza sistemáticamente. El 50% utiliza sistemáticamente el tratamiento combinado de antimoniales y alopurinol. El 40% utiliza esta combinación a menudo.

El 40% utiliza a menudo el tratamiento con miltefosina. Solo un 10% utiliza este tipo de tratamiento a veces y sistemáticamente.

Únicamente el 20% utiliza otros tipos de tratamientos: levamisol, con o sin alopurinol. El 90% de los clínicos utilizan, además, otros tratamientos coadyuvantes: 33% Leisguard.

El criterio más utilizado por los clínicos para iniciar el tratamiento de la leishmaniasis (70%) es la serología positiva. Sólo el 10% utiliza como primer criterio el cuadro clínico compatible, las alteraciones biopatológicas y la seropositividad por un kit comercial. Ninguno utiliza el proteinograma como primer criterio.

El 100% de los clínicos no aconsejan la eutanasia de manera sistemática, sino "a veces", dependiendo de las patologías asociadas, sobre todo insuficiencia renal.

Seguimiento

El 90% de los clínicos recomienda repetir el tratamiento incluso sin recaída. El 20% lo recomienda sistemáticamente y el 10% solo si hay recaída clínica. Respuesta múltiple.

Los que recomiendan repetir el tratamiento incluso sin recaída, lo hacen sobre todo por seroconversión positiva (1/160) (7 de cada 9) o por disproteinemia (6 de cada 9). Los que recomiendan repetir el tratamiento sistemáticamente lo hacen tanto anualmente, como 2 veces al año, como dependiendo de la analítica y evolución.

Según los clínicos, la supervivencia de los perros tratados es, en el 90% de los casos, mayor de 2 años. El 50% señala una supervivencia mayor de 5 años.

El porcentaje de perros que completan la pauta de tratamiento está siempre por encima del 50%, pero mayoritariamente por encima del 80%, situándose la media en el 87,4%. Los pocos que abando-

nan el tratamiento lo hacen fundamentalmente por la mejora clínica y ausencia de síntomas o bien por recaídas, aunque también influye de forma importante el aspecto económico.

Prevención

El 100% de los clínicos recomienda, como medida preventiva, la utilización conjunta de repelentes e insecticidas, pero además todos recomiendan otras precauciones o tratamientos, fundamentalmente adecuar los horarios de los paseos (60%), dormir en el interior de las casas (50%) y la vacunación (40%). Respuesta múltiple.

El 90% recomienda la vacunación de los perros contra la leishmaniasis. Los criterios para recomendarla son fundamentalmente que vivan en zonas de riesgo o que pasen mucho tiempo en el exterior.

El 80% de los clínicos informa sistemáticamente a los dueños sobre la enfermedad, el resto lo hacen a menudo o a veces, no habiendo ninguno que no informe. Los aspectos sobre los que más informan son la sintomatología y el aspecto zoonótico de la enfermedad, es decir, el potencial riesgo para el hombre. En menor medida se informa sobre medidas de prevención y la importancia del diagnóstico precoz.

Preguntados específicamente sobre si comentan con los dueños el aspecto zoonótico de la enfermedad, el 100% responde afirmativamente.

El 90% de los clínicos estaría dispuesto a participar como veterinario centinela de leishmaniasis reportando información periódica a un grupo de RED coordinado desde las autoridades de salud pública.

Controles

Con el fin de determinar el posible papel que los perros y gatos de la zona sur de la Comunidad de Madrid han podido jugar en el brote de leishmaniasis en este entorno, la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid ha venido realizando desde el inicio del brote diferentes controles en estos animales.

Dichos controles han consistido principalmente en estudios de seroprevalencia. No obstante, se han realizado otro tipo de estudios y medidas de control, siendo el conjunto de todos ellos los que a continuación se detallan.

Muestreo en población general canina de la zona del brote en campañas de vacunación antirrábica 2011 y 2012.

Dentro de las primeras actuaciones que efectuó la Consejería de Sanidad como consecuencia de la inusual prevalencia que se estaba desarrollando en la población humana en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid, fue comprobar cómo se estaba comportando esta enfermedad en lo que hasta ahora se había señalado como principal reservorio de la misma, el perro.

Por ello, durante la campaña anual de vacuna-

ción antirrábica desarrollada en el mes de junio de 2011 y 2012, organizada desde el COVM a través de la contratación de veterinarios colaboradores y en colaboración con los ayuntamientos de la zona afectada, se acordó que además de proceder a dicha vacunación, de forma aleatoria y de una manera voluntaria se realizase un test rápido *in situ* a un porcentaje de los perros que acudían a dicha campaña.

De aquellos animales que resultaron positivos a dicho test (rK-39), se procedió a extraer sangre con el fin de enviar el suero al Laboratorio Regional Agrario dependiente de la Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid y confirmar el título de anticuerpos frente a la enfermedad, a través de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

Según este procedimiento, en 2011 tan solo fueron 8 de 811 los perros que dieron positivo a dicho test, lo que supone una prevalencia del 0,9% (0,3 - 1,7; IC 95%). En 2012 la prevalencia fue algo mayor, un 1,6% (0,6 - 2,6; IC 95%), siendo 9 de 561 los perros positivos. La prevalencia total de estos años en los 1.372 perros muestreados que acudieron a la campaña de vacunación antirrábica fue de 1,2% (0,7 - 1,8; IC 95%), lo que parecía indicar que no era el perro el reservorio principal causante de este aumento de la prevalencia de la leishmaniasis en la población humana (tabla 2).

Muestreo en población general canina de la zona del brote a través del Sistema de Clínicas Veterinarias Centinela en 2013 y 2014.

A partir de 2013 la Orden que regula el desarrollo de la campaña antirrábica se ve modificada, de manera que el COVM coordina la misma a través de las clínicas veterinarias que de manera voluntaria desean participar en su desarrollo.

Ese año, con el fin de seguir vigilando en qué medida el perro actuaba como reservorio en la transmisión de la enfermedad dentro del brote, se decidió continuar con la realización de los test rápidos y confirmación de los positivos en el Laboratorio Regional Agrario, aprovechando el Sistema de Clínicas Veterinarias Centinelas pertenecientes a la zona del brote recientemente creado. Para ello se facilitó a dichas clínicas test rápidos de detección de Leishmania, a través del convenio suscrito entre el COVM y la Consejería de Sanidad.

Tabla 2

LEISHMANIOSIS EN PERROS DE CAMPAÑA ANTIRRÁBICA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID 2011 - 2012

	2011	2012	TOTAL
Nº muestras	811	561	1.372
Prevalencia (%)	0,9 (8)	1,6 (9)	1,2 (17)

La prevalencia resultante fue mayor que los datos de las campañas antirrábicas de 2011 y 2012, siendo de un 3,2% en 2013 (6 positivos), si bien el número de animales muestreados era inferior (187), y por tanto menor también la representatividad y el rango del intervalo del valor de la prevalencia mucho más amplio (0,7 - 5,7; IC 95%). Además, hay que tener en cuenta, que la población muestreada era aquella que entraba en una clínica veterinaria a consulta y no la que acudía a una campaña de vacunación antirrábica sin sintomatología alguna aparente y muestreada de una manera aleatoria.

En junio de 2014, en colaboración con el Instituto de Salud Carlos III, se puso en marcha un muestreo a través del Sistema de Clínicas Veterinarias Centinela, sin *screening* previo a través de test rápido, sino remitiendo directamente las muestras de sueros al laboratorio para realizar un análisis mediante IFI. Hasta diciembre de 2014 los valores de prevalencia son algo inferiores al resto de los sistemas de vigilancia: de las 274 muestras tomadas 14 resultaron positivas, 23 dudosas y 237 negativas, lo que arroja una prevalencia del 5,1% (2,5 - 7,7; IC 95%).

Muestreo en perros de riesgo (rehalas, residencias y explotaciones ganaderas) 2011-2014.

Desde el año 2011, y con el fin de averiguar el papel que el perro podía estar jugando en la transmisión de la enfermedad en el brote, se investigó desde el primer momento de la aparición del brote, en colaboración con la Dirección General de Agricultura y Ganadería, la seroprevalencia de aquellos cánidos que en principio podrían estar más expuestos a la enfermedad. Es decir, aquellos que residieran en la zona del brote y que pudieran tener más riesgo de contraerla, tanto por las condiciones ambientales, al no pernoctar en el interior de los hogares, como a la posibilidad de entrar más en contacto con el vector transmisor de la enfermedad (flebotomo), al participar en cacerías (perros de rehalas) o estar más en contacto con otros animales (perros de explotaciones ganaderas).

Los valores de prevalencia en estos animales van desde el 3,6% en 2011 al 1,4% en 2014, con una total del 2,3% sobre una muestra de algo más de 1.300 animales (tabla 3). Por tanto, estos valores tampoco parecen indicar que los denominados "perros de riesgo", pertenecientes a rehalas, residencias caninas y explotaciones ganaderas de la zona del brote,

tengan mayor probabilidad de contraer la enfermedad que otros. Además, se ha podido comprobar *in situ*, como las medidas preventivas en estos cánidos son mayores que en otros de compañía y que viven en los hogares, tanto las de tipo pasivo con la disposición de insectocutores en los lugares donde están albergados, como las activas a través de la aplicación de repelentes y anti-parasitarios ("pipetas").

Red de Veterinarios Centinela (2012-2013)

A finales de 2012 se puso en marcha un Sistema de Vigilancia en Clínicas Veterinarias Centinela para la detección y valoración de leishmaniasis en animales de compañía en la zona del brote, con el fin de tener información periódica de los casos diagnosticados en las mismas. Dicho sistema lo conforman un total de 29 clínicas veterinarias, de las que 14 suministran información periódicamente: Fuenlabrada (6), Leganés (5), Humanes de Madrid (2) y Moraleja de Enmedio (1).

El número de casos de leishmaniasis atendido anualmente varía de 0 a 25 por clínica durante los años 2009 a 2012. El total de perros diagnosticados positivamente fue de 45 en 2009, 38 en 2010, 46 en 2011, 41 en 2012 y 19 en 2013, sobre una muestra declarada en torno a los 14.000 perros reconocidos al año.

Como se puede comprobar, el sistema de vigilancia tampoco ha detectado un incremento de la presencia de leishmaniasis en perros en las zonas afectadas por el brote, lo que apoya la hipótesis de hallarnos ante un ciclo no convencional de transmisión de la enfermedad cuyo protagonista no es el perro.

Sistemas de Vigilancia de Leishmaniasis en perros y gatos susceptibles de adopción y vagabundos en el periodo 2010-2014 en Centros de Protección Animal colaboradores, comparando prevalencias en toda la CM y en los de la zona del brote.

Desde 1997 la Consejería de Sanidad tiene implantado un Sistema de Vigilancia de Leishmaniasis en perros susceptibles de adopción en todo el territorio de la Comunidad de Madrid. Desde entonces participan trece Centros de Protección Animal (CPA) de titularidad pública distribuidos por toda la región, muestreando anualmente en torno a 800 perros.

Los Centros de Protección Animal ubicados en la zona del brote son tres: Leganés, Fuenlabrada y Ge-

Tabla 3
LEISHMANIOSIS EN PERROS DE FOCOS POTENCIALES DE RIESGO
COMUNIDAD DE MADRID 2011 - 2014

	2011	2012	2013	2014	TOTAL
Nº muestras	196	502	415	209	1.320
Prevalencia (%)	3,6 (7)	2 (10)	2,4 (10)	1,4 (3)	2,3 (30)

tafe. Analizando la seroprevalencia de estos, y comparándola con el total de la Comunidad de Madrid, desde 2010 hasta 2014 siempre ha sido inferior en estos centros que en los del resto de la región (tabla 4).

En el caso de los gatos el Sistema de Vigilancia de Leishmaniasis comenzó en 2008, y desde 2010 se han analizado 620 animales en toda la Comunidad de Madrid, con una prevalencia total de un 2,4% (1,2 - 3,6; IC 95%), menor que en el caso de los perros. Los análisis realizados en los CPA de la zona del brote también muestran que los valores de prevalencia son algo menores que en el resto de la región al ser del 2,1% (0,4 - 3,9; IC 95%) (tabla 5).

Desde 1996 la Consejería de Sanidad mantiene un Sistema de Vigilancia en Perros Vagabundos en la Comunidad de Madrid, en la que colaboran 17 Centros de Protección Animal distribuidos por toda la región. Anualmente se muestrean en torno a 300 perros, en dos fases, una primera toma en primavera y otra en otoño. Si bien las prevalencias obtenidas son algo mayores en la zona del brote, hay que tener en cuenta que el número de animales muestreados es inferior, por lo que el rango es más amplio. Así en la zona del brote la prevalencia es del 5,9% (1,9 - 9,9; IC 95%) y en el resto de la región del 5,1% (3,9 - 6,3; IC 95%) (tabla 6).

Tabla 4

SISTEMA DE VIGILANCIA DE LEISHMANIOSIS EN PERROS SUSCEPTIBLES DE ADOPCIÓN
ZONA SUROESTE vs TOTAL DE LA COMUNIDAD DE MADRID 2010 - 2014

Año	Leganés		Fuenlabrada		Getafe		TOTAL Zona Brote		TOTAL CM	
	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia
2010	82	4,8 (4)	83	3,6 (3)	-	-	165	4,2 (7)	778	4,6 (36)
2011	153	1,9 (3)	97	7,2 (7)	-	-	250	4 (10)	674	6,1 (41)
2012	209	3,8 (8)	112	1,8 (2)	27	7,4 (2)	348	3,4 (12)	682	6,9 (47)
2013	56	1,8 (1)	81	6,2 (5)	42	9,5 (4)	179	5,6 (10)	890	6,7 (60)
2014	37	0	81	4,9 (4)	47	14,9 (7)	165	6,6 (11)	784	8,2 (64)
TOTAL	537	2,9 (16)	454	4,6 (21)	116	11,2 (13)	1.107	4,5 (50)	3.808	6,5 (248)

Tabla 5

SISTEMA DE VIGILANCIA DE LEISHMANIOSIS EN GATOS SUSCEPTIBLES DE ADOPCIÓN
ZONA SUROESTE vs TOTAL DE LA COMUNIDAD DE MADRID 2010 - 2014

Año	Leganés		Fuenlabrada		Getafe		TOTAL Zona Brote		TOTAL CM	
	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia
2010	1	0	13	7,7 (1)	-	-	14	7,1 (1)	54	5,5 (3)
2011	65	4,6 (3)	12	0	-	-	77	3,9 (3)	114	2,6 (3)
2012	44	0	7	0	-	-	51	0	59	0
2013	45	0	42	2,4 (1)	-	-	87	1,1 (1)	178	3,9 (7)
2014	20	0	21	0	9	11,1(1)	50	2 (1)	215	0,9 (2)
TOTAL	175	1,7 (3)	95	2,1 (2)	9	11,1 (1)	279	2,1 (6)	620	2,4 (15)

Tabla 6

SISTEMA DE VIGILANCIA DE LEISHMANIOSIS EN PERROS VAGABUNDOS
ZONA SUROESTE vs TOTAL DE LA COMUNIDAD DE MADRID 2010 - 2014

Año	Leganés		Fuenlabrada		Getafe		TOTAL Zona Brote		TOTAL CM	
	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia	Muestras	Prevalencia
2010	13	0	-	-	10	0	23	0	203	4,9 (10)
2011	11	0	-	-	-	-	11	0	210	4,3 (9)
2012	22	0	7	0	10	10 (1)	39	2,5 (1)	302	5,6 (17)
2013	6	16,6 (1)	8	25 (2)	12	16,6 (2)	26	(5)	306	6,5 (20)
2014	5	0	19	0	12	16,6 (2)	36	5,5 (2)	303	3,9 (12)
TOTAL	57	1,7 (1)	34	5,8 (2)	44	11,3 (5)	135	5,9 (8)	1.324	5,1 (68)

Recogida de perros y gatos abandonados por parte de los Ayuntamientos de la zona del brote 2010-2014

Entre las medidas adoptadas por los municipios afectados por el brote, se encuentra la recogida de perros y gatos abandonados en sus localidades, con el fin de disminuir el riesgo de transmisión de la enfermedad a través de éstos. Esta labor se realiza con un gran esfuerzo humano y material por dichas corporaciones locales, siendo el resultado de la misma el reflejado en la tabla 7.

Análisis de resultados

Una vez analizados los resultados de los diferentes sistemas de vigilancia de *Leishmania* en animales domésticos con el fin de detectar posibles prevalencias anormalmente altas, en toda la Comunidad de Madrid y en la zona suroeste de nuestra región, podemos establecer lo siguiente:

- Desde 2010 hasta 2014 se han muestreado 4.395 perros de la zona del brote, habiendo resultado positivos frente a *Leishmania* 125 animales, lo que nos da una prevalencia del 2,8% (2,4 - 3,3; IC 95%).
- En el caso de los gatos, en el que solo está establecido el Sistema de Vigilancia de *Leishmania* en animales susceptibles de adopción, la prevalencia en la zona del brote desde 2010 hasta 2014 es del 2,1% (0,4 - 3,9; IC 95%), siendo un total de 6 animales positivos de 279 animales analizados.

Conclusiones

Según los datos analizados, no parece que los animales domésticos de compañía intervengan o

hayán intervenido en el brote de leishmaniasis humana de la zona suroeste de la Comunidad de Madrid. Pese a ello, desde la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid, se continúa con la vigilancia de los mismos, por si se detectasen valores anormalmente altos de la enfermedad en perros o gatos de la zona.

No obstante, es muy importante que todos aquellos animales domésticos que resulten positivos a esta enfermedad estén controlados por sus propietarios a través del asesoramiento y las medidas que los veterinarios clínicos estimen oportunas, con el fin de que la posibilidad de transmisión de la enfermedad al hombre sea la menor posible.

Para ello, en colaboración con el Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid se han editado y distribuido a través de clínicas veterinarias, centros de protección animal, centros de salud pública, etc., más de 7.000 folletos informativos sobre la enfermedad dirigidos a propietarios de animales de compañía.

Agradecimientos

En primer lugar y ante todo, es necesario hacer llegar a todos los profesionales que han participado en el desarrollo y gestión de los Sistemas de Vigilancia de Leishmaniasis en animales domésticos en la Comunidad de Madrid, nuestro más sincero agradecimiento. Gracias al buen trabajo desarrollado y a la colaboración establecida con todos ellos, se ha podido realizar esta labor tan importante para la salud pública en nuestra región.

Entre los técnicos participantes en estos sistemas se encuentran los veterinarios de las áreas de salud pública de la Consejería de Sanidad, los técnicos de los ayuntamientos afectados por el brote, los de los laboratorios que realizan las determinaciones analíticas (Laboratorio Regional de Sanidad Animal, VISAVET, ISC III y Laboratorio de Epicontrol-Carnívoros), los responsables de los diferentes CPA, así como colaboradores del Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid, y personal auxiliar (antiguos auxiliares de hidatidosis), administrativo y conductores (Laboratorio Regional de Salud Pública), sin cuyo trabajo no podrían desarrollarse correctamente estos sistemas de vigilancia.

Desde las Consejerías de Sanidad y de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio, queremos dar las gracias a todos ellos.

Tabla 7

RECOGIDA DE ANIMALES ABANDONADOS
ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID
2010 - 2014

	Leganés		Fuenlabrada		Getafe	
	Perros	Gatos	Perros	Gatos	Perros	Gatos
2010	263	165	262	174	93	61
2011	250	235	156	146	101	81
2012	243	171	152	314	176	35
2013	281	205	230	177	197	53
2014	288	114	207	104	203	101

ANEXO 1

 Dirección General de Ordenación e Inspección CONSEJERÍA DE SALUD Comunidad de Madrid	Subdirección General de Sanidad Ambiental Zoonosis y Riesgos Biológicos	02.07.2012
	RED DE VIGILANCIA DE LEISHMANIOSIS ÁREA 9 CUESTIONARIO INICIAL veterinarios clínicos	Pág. 1 de 4

CUESTIONARIO inicial veterinarios clínicos

Municipio: _____ Fecha: _____
 Clínica Veterinaria: _____
 Dirección: _____
 Titular: _____ Nº col: _____
 Persona de contacto: _____
 Tlfno: _____ Correo-e: _____

SITUACIÓN DE LA ENFERMEDAD

¿Cuántos perros atiende en su actividad clínica anualmente? _____

Nº de casos de leishmaniosis - diagnósticos positivos – incidencia (responden a la definición de caso)

2009: _____

2010: _____

2011: _____

¿Ha observado alguna estacionalidad en la aparición de los casos?

No

Si (especificar meses): _____

Respecto a los casos positivos, ¿podría estimar que porcentaje suponen respecto a los pacientes totales (prevalencia)?

% estimado: _____

Cuadro clínico que se presenta con más frecuencia:

Cutáneo Sistémico Mixto

Asintomático Otros: _____

Enfermedades asociadas a la leishmaniosis con más frecuencia

a. _____

b. _____

c. _____

¿Entre los casos vistos en la clínica, ha tenido casos simultáneos de leishmaniosis humana y canina?

Si (cuántos) _____ No

 Dirección General de Ordenación e Inspección CONSEJERÍA DE SANIDAD Comunidad de Madrid	Subdirección General de Sanidad Ambiental Zoonosis y Riesgos Biológicos	02.07.2012
	RED DE VIGILANCIA DE LEISHMANIOSIS ÁREA 9 CUESTIONARIO INICIAL veterinarios clínicos	Pág. 2 de 4

DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

Frotis y tinción de:

- Improntas cutáneas
- Punción ganglionar
- Punción medular
- Otras (especificar): _____

Serología:

- Kit comercial (especificar): _____
- IFI
- ELISA
- Otras (especificar): _____

Otras técnicas:

- PCR (sangre)
- PCR (médula)
- Histopatología de lesiones cutáneas
- Otras (especificar): _____

Para alguna de las fases diagnósticas, ¿trabaja con un laboratorio externo?

- No
- Si (especificar cuál) _____

TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD

¿En caso de instaurar un tratamiento, ¿qué productos utiliza?

Productos	Nunca	A veces	A menudo	Sistemáticamente
Antimoniales solo				
Alopurinol solo				
Antimoniales + Alopurinol				
Miltefosina				
Otros (especificar)				

¿Recurre a tratamientos coadyuvantes? Indique cuáles:

1. _____
2. _____
3. _____

 Dirección General de Ordenación e Inspección CONSEJERÍA DE SANIDAD Comunidad de Madrid	Subdirección General de Sanidad Ambiental Zoonosis y Riesgos Biológicos	02.07.2012
	RED DE VIGILANCIA DE LEISHMANIOSIS ÁREA 9 CUESTIONARIO INICIAL veterinarios clínicos	Pág. 3 de 4

Citar por orden de importancia cuáles son los criterios para iniciar un tratamiento específico (puede marcar más de un criterio)

- Cuadro clínico compatible
 Serología positiva (indicar titulación)
 Alteraciones en el proteinograma (indicar A/G)
 Alteraciones biopatologías (hemograma, perfil hepatorenal, urianálisis, especificar, ...)

 Seropositividad por un kit comercial (especificar):

 Otros (especificar): _____

¿En qué casos decide indicar la eutanasia?

- Nunca A veces A menudo Siempre

En caso afirmativo, especificar causas:

1. _____
 2. _____
 3. _____

SEGUIMIENTO DE LA ENFERMEDAD

¿En qué situaciones decide repetir el tratamiento?

- Sistemáticamente
 1 vez al año
 2 veces al año
 Otra frecuencia (especificar): _____
 Únicamente en caso de recaída clínica
 Incluso sin recaída clínica, en caso de:
 Seroconversión positiva (indicar titulación) _____
 Disproteinemia (indicar A/G)
 Evidenciación del parásito (especificar técnica) _____
 Otros (especificar): _____

Según su experiencia, la supervivencia de los perros enfermos tratados es de:

- < 3 meses 3-6 meses 6m -1 año 1-2-años 2-5 años > 5 años

% perros que completan la pauta de tratamiento: _____

 Dirección General de Ordenación e Inspección COMUNIDAD DE MADRID Comunidad de Madrid	Subdirección General de Sanidad Ambiental Zoonosis y Riesgos Biológicos	02.07.2012
	RED DE VIGILANCIA DE LEISHMANIOSIS ÁREA 9 CUESTIONARIO INICIAL veterinarios clínicos	Pág. 4 de 4

Indique las principales causas de abandono por orden de presentación:

1. _____
2. _____
3. _____

PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD

Recomienda la utilización de

- Insecticidas Repelentes Ambos Otros (especificar) _____

Además de insecticidas o repelentes, ¿recomienda otras precauciones o tratamientos?

- No
 Si (especificar) _____

Recomienda la utilización de la vacuna

- No
 Si (especificar si con algún criterio, p.e. perros de riesgo)

¿Informa a sus clientes sobre la enfermedad?

- Nunca A veces A menudo Sistemáticamente

En caso afirmativo, ¿qué aspectos comenta?

1. _____
2. _____
3. _____

¿Comenta el carácter zoonótico de la enfermedad? Si No

¿Estaría dispuesto a participar como veterinario centinela de leishmaniasis reportando información periódica a un grupo en RED coordinado desde las autoridades de salud pública?

- Si No

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Remitir a

Sº Salud Pública Área 9: CS María Montessori – Avda. Portugal, 2 / 28916 LEGANÉS / T: 91 248 49 00

Correo-e: **saludpublica.area9@salud.madrid.org**

MEDIDAS DE CONTROL AMBIENTAL EN EL BROTE DE LEISHMANIASIS DE LA ZONA SUROESTE DE LA COMUNIDAD DE MADRID

Dirección General de Agricultura y Ganadería y Dirección General del Medio Ambiente.
Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación
del Territorio. Comunidad de Madrid. Tecnologías y Servicios Agrarios, S.A.

Resumen

Como consecuencia del aumento en el número de casos de Leishmaniasis en el municipio de Fuenlabrada (2010-2011), la Consejería de Sanidad inicia un estudio epidemiológico, permitiendo fijar el origen del brote de forma retrospectiva en julio de 2009 y ampliar su alcance a los municipios de Leganés, Getafe y Humanes de Madrid.

Gracias a los resultados de la investigación epidemiológica y al muestreo de distintas especies animales, se descubre la implicación de la liebre y el conejo como posibles reservorios silvestres de la enfermedad, centrándose la atención en los parques forestales que ocupan el epicentro de la zona afectada, concretamente Bosque Sur, parque Polvoranca y el Campus de la Universidad Rey Juan Carlos en Fuenlabrada (URJC), con una evidente presencia de liebres y conejos.

La Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio comienza entonces a ejecutar un plan de actuaciones ambientales sobre el vector y los reservorios silvestres, interviniendo en el hábitat de ambos, y mediante estrategias de control de poblaciones sobre la liebre y el conejo.

La implantación de estas acciones se ha mantenido desde 2012 hasta la fecha, reforzándose aquellas que, a la luz de las investigaciones sobre el comportamiento del vector flebotomo en este brote periurbano, se han destacado como prioritarias. Es el caso de la captura y eliminación de los reservorios silves-

tres que participan en el ciclo del vector, lo que ha contribuido en gran medida a la disminución de los casos de leishmaniasis en los municipios de la zona afectada.

Introducción

Los factores medioambientales, sociales y demográficos inciden directamente en la aparición de enfermedades parasitarias donde hasta hace poco estaban ausentes o eran poco significativas. Si se dan los factores adecuados en una zona geográfica determinada, donde cohabitan los parásitos (*Leishmania* spp.), los vectores (*Phlebotomus perniciosus*), los reservorios (animales mamíferos) y los humanos, la transmisión de la enfermedad ocurre de forma continua y se origina un brote.

Es el caso del brote de leishmaniasis en el suroeste de la Comunidad de Madrid. La reemergencia de la enfermedad en esta zona se encuentra estrechamente relacionada con su intensa actividad humana, ya que en los últimos años ha experimentado una gran explosión demográfica.

Los grandes núcleos de población como Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid, entre otros, se encuentran en continua expansión, con una urbanización enorme de zonas rurales y, en consecuencia, la alteración del medio ambiente: movimientos de tierras, construcción de grandes infraestructuras viarias, creación de parques y zonas verdes periurbanas, actividad agrícola y cinegética en contacto estrecho con las viviendas, etc.

También los factores ambientales como el cambio climático inciden en el comportamiento del vector, con un incremento de las temperaturas; y también a través de la vegetación, la precipitación y la humedad, el tipo de suelo y su grado de absorción de agua, o el tipo, cantidad y pH del agua.

Por último, otro factor que facilita la reemergencia de la enfermedad es la aparición de nuevas especies reservorio que intervienen en el ciclo biológico del vector (o incluso de nuevas especies vectoras).

El estado sanitario de los animales domésticos, generalmente, con controles veterinarios frecuentes, le proporcionan al perro un nivel de protección frente a los flebotomos, que ha desplazado el interés del vector hacia otras especies accesibles, como son los lepóridos presentes en toda el área periurbana, como consecuencia de la expansión de los núcleos de población y su intromisión en el hábitat natural de estos animales.

Inicialmente se trazó un área de acción de 3 km, tomando como centro la confluencia de los parques Bosque Sur y Polvoranca, ya que parecía clara su implicación en el brote, una vez se había producido el hallazgo que señalaba a la liebre como el reservorio principal en el medio natural. Se tomó este radio como referencia basándose en la bibliografía que atribuía al vector flebotomo la capacidad para desplazarse a lo largo de distancias entre 200 m y 3 km, y dentro del área resultante se identificaron los factores de riesgo que podían estar relacionados con la enfermedad.

En función de las características y la ubicación de cada factor, se emprendieron acciones de limpieza y saneamiento ambiental, inspección y seguimiento,

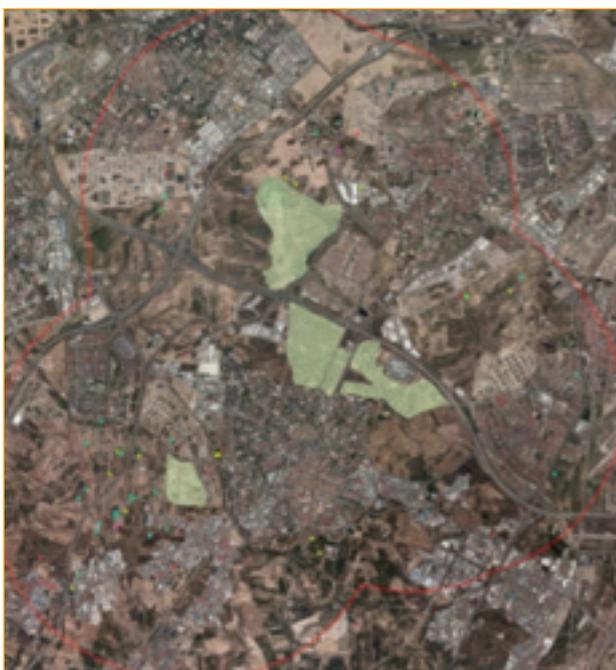


Figura 1. Área de influencia del brote.

desinsectación y captura de reservorios silvestres, realizando toma de muestras en liebres y conejos y también en perros de explotaciones ganaderas.

Estas actuaciones se han mantenido durante los últimos cuatro años, con el objetivo de interferir en el ciclo biológico del vector, atacando paralelamente a su fuente principal de alimentación y a los puntos que utilizaban como lugar de refugio o de cría.

Este objetivo se ha visto reafirmado año a año por los resultados obtenidos de la vigilancia del vector, que ponen de manifiesto la mayor apatencia por las especies de lepóridos (fundamentalmente la liebre) y la elección de registros, imbornales y madrigueras como lugares de cría preferidos por los flebotomos.

Metodología

Identificación de factores ambientales de riesgo y mapeo de puntos críticos

Una vez identificada la zona de influencia del brote, tomando como tal los 3 km de zonas urbanas y periurbanas entorno a los parques forestales, se zonificó el área de actuación para su inspección sobre el terreno, localizando factores de riesgo ambiental.

Se visitaron zonas urbanizadas, zonas agrícolas, polígonos industriales, márgenes de arroyos y, con especial atención, los parques y zonas verdes periurbanas cercanos a núcleos de población afectados por casos de leishmaniasis.

Se documentó cada punto crítico localizado mediante coordenadas, mapas de situación, fotografías y una descripción detallada y se mapearon dos tipos de factores de riesgo:

- Factores relacionados con el vector: residuos inorgánicos (envases, basuras, etc.), residuos vegetales (rastros, maleza, restos de poda, etc.) escombreras, restos orgánicos y cadáveres de animales, aguas residuales, estercoleros, ruinas y edificaciones, zonas húmedas con vegetación, madrigueras, explotaciones ganaderas, núcleos zoológicos, polígonos industriales y en general todas las zonas en contacto con los núcleos urbanos.
- Factores relacionados con los reservorios: poblaciones de lepóridos y perros en explotaciones ganaderas.

Todos los hallazgos del área inspeccionada se comunicaron para su posterior seguimiento por los ayuntamientos afectados. Asimismo, se realizaron varias revisiones periódicas para comprobar la aplicación de las soluciones propuestas.

Mientras tanto, el control de los factores de riesgo localizados en el ámbito de los parques forestales gestionados por la Comunidad de Madrid, fue abordado por el operativo de la Consejería de Me-

dio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio. Las zonas investigadas en este caso, fueron las siguientes:

- Parque Polvoranca (150 Ha).
- Barranco de Canto Echado (120 Ha).
- Roturas del Culebro (101 Ha).
- URJC, campus de Fuenlabrada (40 Ha).

En cuanto a las infraestructuras viarias (líneas de cercanías, M-50, R-5, A-42 y red de carreteras de la Comunidad de Madrid), el Campus de la URJC, algunas instalaciones del Canal de Isabel II, o el curso del Arroyo Culebro, su control ambiental se solicitó a los organismos y entidades encargados de su gestión y mantenimiento, bajo la coordinación y seguimiento de la misma consejería en colaboración con la Consejería de Sanidad.

Actuaciones frente al reservorio

Los esfuerzos se centraron en la captura y eliminación de las dos especies, principalmente de la liebre, pero también del conejo.

Para ello, en 2012, en virtud de la Resolución de 29 de marzo de 2012 de la Dirección General del Medio Ambiente, se declara "comarca de emergencia cinegética temporal" los términos municipales de Alcorcón, Fuenlabrada, Getafe, Leganés y Móstoles, permitiéndose la autorización, fuera de los periodos habituales, para la caza con galgos, aves de cetrería o hurón y capillo, en zonas acotadas y terrenos libres dentro del área de actuación.

Después de una primera campaña de capturas centrada principalmente en los parques forestales de Bosque Sur y Polvoranca y los cotos limítrofes con los mismos, se terminó por ampliar el territorio de actuación a un radio de 5 km, abarcando tanto zonas libres como zonas acotadas, siempre y cuando no se trasladaran animales vivos ni se utilizaran para repoblación o comercialización en vida.

En función de los avistamientos de animales, realizados tanto por personal de la Comunidad de Madrid y los ayuntamientos como por los cazadores locales, se han ido dirigiendo los esfuerzos de captura a unas u otras ubicaciones, prestando especial interés a las zonas limítrofes con los núcleos de población, en una franja de 500 m.

Para la toma de muestras se realizó una zonificación por parcelas y se enviaron al laboratorio para su necropsia y análisis, procurando alcanzar al menos 20 ejemplares de cada especie por zona.



Figura 2. Parcela B3. Grupo de liebres campeando en una de las parcelas de Bosque Sur.

Figuras 3, 4 y 5. Captura de liebres con redes verticales en Bosque Sur.

1. Liebres

La especie prioritaria sobre la que se centraron las actuaciones de control inicialmente, es la liebre. La zona suroeste de Madrid ha sido históricamente territorio de liebres y conejos.

La captura de liebres se ha realizado mediante la colocación de redes verticales batiendo el terreno con ojeadores especializados, pero una vez reducida la población, y dispersada por la enorme presión ejercida sobre ella, se ha tenido que descartar este método en favor de la persecución con galgos, las aves de cetrería, e incluso el arma de fuego en determinadas zonas autorizadas y con el dispositivo de seguridad necesario.

Asimismo, se ha elegido el método de captura más adecuado en cada caso, siendo los utilizados hasta el momento redes verticales, aves de cetrería, perros de persecución y arma de fuego.

2. Conejos

En cuanto al conejo de monte, al mermar la población de liebres el primer año de campaña, experimentó una enorme proliferación. En 2013, una vez confirmada mediante xenodiagnóstico su intervención en el ciclo selvático de la leishmaniasis, se intensificaron las actuaciones de captura en esta especie.

Los métodos de elección son el hurón y capillo, así como el arma de fuego en localizaciones donde se han podido realizar batidas con las medidas de seguridad necesarias. Sin embargo, también se ha realizado una captura para testar un sistema experimental que se acopla a la boca de la madriguera, funcionando como una caja trampa que se acciona al entrar el animal buscando refugio.

Por otro lado, se han realizado actuaciones de control de conejos con un sistema de jaula-trampa tradicional, ya que aprovechan los huecos y aberturas de algunas edificaciones como vivar. Es el caso del Centro de Educación Ambiental de Bosque Sur, los edificios del Campus de la URJC en Fuenlabrada o algún colegio en el término municipal de Getafe.



Figura 6. Cetrero en el CEA de Bosque Sur.



Figura 7. Captura con método experimental.



Figura 8. Jaula-trampa tradicional.

Por lo tanto, al igual que con la liebre, en función de la situación y factores relacionados, se ha seleccionado el método de captura: hurón y capillo, aves de cetrería, perros de persecución, arma de fuego, jaulas trampa, redes verticales y redes o corrales combinadas con capillos.

3. Perros

Se podría decir que las explotaciones ganaderas presentan factores de riesgo relacionados con el vector y con los reservorios. Pero en lo que respecta a los reservorios, han sido objeto de investigación los perros presentes en algunas de estas explotaciones ubicadas dentro del área de actuación.

En 2012 y 2013 se muestrearon todos los perros de las explotaciones ganaderas localizadas en 3 km alrededor del área de actuación. En campañas posteriores se muestreó un 50% de los animales, dirigiendo el muestreo a las explotaciones más cercanas a los núcleos de población o en las proximidades de los parques.

Al mismo tiempo que se revisaba el estado sanitario del perro en busca de posible sintomatología,



Figura 9. Jornada de captura con perros de persecución.

se tomaron muestras de suero para el diagnóstico de leishmaniasis mediante un test rápido de detección y los resultados pasaron a integrarse en el sistema de vigilancia establecido por la Consejería de Sanidad.

Mientras que la estrategia de control de los reservorios anteriores no ha podido ser otra que su retirada y eliminación, en el caso de los animales domésticos existen otras posibilidades, mediante las medidas de profilaxis adecuadas. En este sentido, se ha asesorado a los ganaderos en relación a las medidas necesarias.



Figura 11. Toma de muestras en perros de riesgo.



Figura 10. Hurón y capillo.



Figura 12. Perros en una explotación ganadera.



Figura 13. Test rápido de diagnóstico con resultado negativo.

Actuaciones frente al vector

En el caso del control del vector flebotomo se han abordado dos grandes líneas de actuación:

- Desinsectación y métodos de control biológico.
- Medidas estructurales o de saneamiento ambiental.

Recordemos que, además de la lucha contra el vector, es necesario atacar directamente a los factores limitantes del crecimiento de la población: la alimentación, la reproducción y el refugio.

En este sentido, las actuaciones relacionadas con el reservorio privan al vector de la principal fuente de alimentación para la hembra de flebotomo, la sangre de mamíferos, con especial apetencia por la de la liebre, seguida por la sangre de conejo.

Pero estas actuaciones deben combinarse con otro paquete de medidas enfocadas a controlar el ciclo reproductivo del vector y a modificar ese há-



Figura 14. Tratamiento insecticida mediante termonebulización. Bosque Sur.

bitat tan favorable que ha encontrado en esta zona geográfica.

1. Desinsectación y métodos de control biológico

Se han aplicado tratamientos con adulticidas y larvicidas en el interior de los parques y en las zonas colindantes con los núcleos de población, como el Pinar de La Avanzada y los muros de algunos colegios de Fuenlabrada que se encuentran en las proximidades de Bosque Sur.

Figura 14. Tratamiento insecticida mediante termonebulización. Bosque Sur.

Los tratamientos se realizaron en un principio en dos fases: a finales de mayo - principios de junio y a finales de septiembre - principios de octubre, por ser las épocas del año con mayor actividad del vector. Posteriormente, para más seguridad, se optó por tratamientos más continuados durante toda la temporada del flebotomo (entre abril-mayo y octubre), aplicando dos tipos de insecticidas:

- Productos de baja residualidad: deltametrinas de uso ambiental aplicadas mediante nebulización, con una periodicidad, generalmente, quincenal, realizando recorridos en el interior de los parques.
- Productos de alta residualidad: cipermetrinas aplicadas mediante pulverización, con una periodicidad semanal en el interior de registros de redes de alcantarillado y redes pluviales, imborrables y pasos de agua.

En cuanto al control biológico, se instalaron cajas anidaderas para fomentar la presencia de especies de aves insectívoras (herrerillo, carbonero, etc.) en los parques de Bosque Sur y Polvoranca.

Las cajas, de construcción artesanal, se colocaron eligiendo los árboles de mayor porte en Bosque Sur y en parque Polvoranca, suspendidas de las ramas, sin entrar en contacto con el tronco, para evitar que accedieran posibles depredadores. En años sucesivos se ha comprobado la ocupación de las cajas y se han limpiado durante el invierno para facilitar una nueva puesta en primavera.

2. Medidas estructurales o de saneamiento ambiental

Los factores ambientales localizados en la primera fase de actuaciones aportan en gran medida las condiciones necesarias para que tenga lugar el ciclo biológico del vector. Deben ser, por lo tanto, objeto de revisión y/o intervención los vertederos incontrolados, las escombreras, la red general de alcantarillados en mal estado, una incorrecta gestión de basuras, la falta de higiene y limpieza adecuada de zonas de riesgo como sótanos, explotaciones ganaderas, solares abandonados, etc.

En un primer plan de choque se retiraron residuos vegetales, escombros y basuras en el interior



Figuras 15 y 16. Tratamiento de tajeas y red de aguas pluviales por pulverización. Bosque Sur y Polvoranca.



Figura 17. Colocación de caja nido para aves insectívoras. parque Polvoranca.



Figuras 18 y 19. Retirada de escombrera junto a Bosque Sur (antes y después).

de los parques forestales de la Comunidad y sus inmediaciones, en vías pecuarias que recorren los alrededores, en los márgenes del Arroyo Culebro que discurre atravesando casi diametralmente la zona del brote, en carreteras, polígonos industriales y otros terrenos.

Tras la primera campaña de actuaciones de saneamiento ambiental, la Consejería de Sanidad realizó un estudio más detallado de las zonas con mayor densidad de flebotomos y más cercanas a la población. Se evaluaron los factores de riesgo detectados en cada una de estas zonas y las labores de saneamiento ambiental que se habían llevado a cabo y se realizaron nuevas propuestas de intervención ambiental.

Así, en lo que respecta a los parques de Bosque Sur y Polvoranca, dos de las zonas con mayor



Figuras 20 y 21. Trabajos para el cierre de la red de aguas pluviales en el parque Polvoranca.



Figuras 22 y 23. Reparación de las tapas de arquetas en la red de riego en Bosque Sur.

densidad de flebotomos por m², las actuaciones de saneamiento ambiental que se han llevado a cabo, son fundamentalmente las siguientes:

- Cierre de tubos de la red de aguas pluviales de parque Polvoranca.
- Reparación y reposición de tapas de registros de la red de riego y de aguas pluviales de Bosque Sur.
- Desbroces y podas de clareo en las parcelas de Bosque Sur y en parque Polvoranca.
- Limpieza y retirada de residuos de los pasos de agua en ambos parques.
- Cierre de la red de alumbrado (que estaba sin acometer) en una de las parcelas de Bosque Sur.

Actuaciones frente al reservorio y frente al vector

1. Inspecciones en explotaciones ganaderas

Se inspeccionaron todas las explotaciones ganaderas presentes en el área de actuación y se rellenó una ficha por cada una de ellas, aprovechando para

asesorar al ganadero en lo que respecta a las medidas de control y prevención de la leishmaniasis, siempre que tuvieran perros en la explotación de forma habitual.



Figura 24. Desbroces en el interior de los parques.



Figuras 25 y 26. Limpieza de los pasos de agua (tajeas) en los parques. Tajea en parque Polvoranca y Bosque Sur, camino circundante.

2. Destrucción de vivares de conejo

Mención aparte merecen las estrategias de control de población de conejo. Según apunta la bibliografía, las madrigueras son lugares de cría para el flebotomo, dadas las condiciones de luz, humedad y temperatura ideales y teniendo la fuente de alimentación asegurada.

Por lo tanto, la destrucción de vivares se ha planteado como un método fundamental en la lucha contra el flebotomo, estrechamente unido también al control del crecimiento de la población de conejos, sobre todo si se aplica en las épocas más indicadas del año.

Esta medida se ha concentrado sobre todo en los meses que dura el periodo de cría del conejo (de febrero a octubre) y más exactamente coincidiendo con el periodo de máxima actividad del vector (de mayo a octubre). Durante la época de cría, la actividad excavadora de la hembra es mayor, creando cámaras aparte para las parideras, independientes de los vivares habituales.

Partiendo del mapeo de las zonas que presentaban vivares activos, se han realizado actuaciones periódicas para el cierre de las bocas con materiales naturales del entorno (tierra, maderas, etc.) y se ha realizado su seguimiento, teniendo que volver a



Figuras 27 y 28. Cierre de registros de la red de alumbrado en Bosque Sur.



Figura 29. Entrada a madriguera.

cerrar las mismas u otras bocas abiertas en las proximidades de las anteriores.

Cuando ha sido posible por la extensión del vivar y las condiciones del terreno, se ha intervenido levantando el terreno con retroexcavadora, pero han sido actuaciones muy localizadas y ocasionales.

El antiguo vertedero de Leganés, reconvertido actualmente en el mirador de Roturas del Culebro, es un caso particular. Cuando se originaron estos par-

ques, el antiguo vertedero se selló y se revegetó con plantas aromáticas y retamas, como se suele hacer con los vertederos y escombreras que alcanzan grandes dimensiones. No es un caso único en la zona.

En una primera campaña se eliminaron superficialmente las madrigueras del talud que está enfrentado a zonas de cultivo muy favorables para los conejos que lo habitan. Sin embargo, se desestimó este tipo de intervención por el alto riesgo que suponía para los operarios y el escaso resultado.

En 2016 se ha previsto intentar otra solución menos costosa y más viable, como es la colocación de un vallado que rodee la mayor parte del perímetro del mirador, con una malla de doble torsión, enterrada en su parte inferior al menos 40 cm para evitar que los conejos excaven por debajo.

Resultados y discusión

Identificación de factores ambientales de riesgo relacionados con el vector

En una primera campaña de inspección en 2012 se detectaron 80 incidencias, de las cuales 74 fueron documentadas y comunicadas a los ayuntamientos correspondientes y 6 se encontraban en el recorrido de vías pecuarias o en la franja limítrofe de Bosque Sur con Fuenlabrada, en cuyo caso fueron subsanadas por la D.G. del Medio Ambiente.

Se clasificaron estos factores de riesgo según su tipología, distribuyéndose como se indica en la Tabla 1.



Figuras 30 y 31. Trabajos de destrucción y clausura de vivares.

Tabla 1
CLASIFICACIÓN DE FACTORES DE RIESGO LOCALIZADOS EN AL ÁREA DE ACTUACIÓN

TIPOLOGÍA	Nº
Basureros	8
Escombros	16
Escombros y Basuras	45
Ruinas	3
Restos vegetales	2
Reservorios	2
Varios factores	3
Otros	1
Total	80

Desde los ayuntamientos implicados se iniciaron algunas acciones de saneamiento ambiental. Sin embargo, el grado de resolución de estas incidencias estaba muy limitado por los elevados costes de estas actuaciones, por lo que en años sucesivos se centraron los esfuerzos en los trabajos de desbroce, poda y limpieza en los núcleos de población.

Actuaciones frente al reservorio

Se realizó una primera campaña de capturas en 2012, gracias a la cual se retiraron más de 1.000

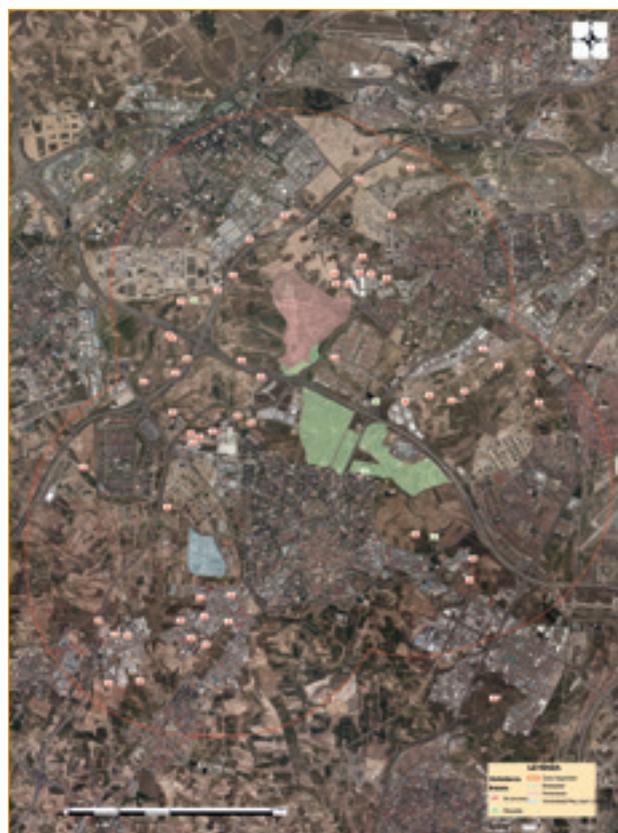


Tabla 2
RESULTADO DE LAS CAPTURAS DE RESERVORIOS POR AÑO DE CAMPAÑA

AÑO	LIEBRES	CONEJOS
2012	1.125	122
2013	48	116
2014	323	5.413
2015	472	12.523
Total	1.968	18.174

Tabla 3
MUESTRAS ANALIZADAS POR AÑO DE CAMPAÑA

AÑO	LIEBRES	CONEJOS
2013	35	74
2014	104	368
2015	146	300
Total	285	742

liebres, de las que aproximadamente la mitad procedían de las parcelas de Bosque Sur. Una vez disminuida la población, debido a la presión ejercida sobre estas parcelas, en 2013 se redujo bastante la presencia de liebres en este territorio. Por esta razón, a partir de 2014, se desplazaron las actuaciones a otras ubicaciones como los cotos de alrededor.

En cuanto a los conejos, hasta 2014 no se confirma su papel como reservorio. Es en ese momento, cuando se empiezan a intensificar los esfuerzos para su eliminación. En 2015, se llegan a alcanzar más de 12.000 capturas, de las cuales casi un 60% corresponden a diversos cotos de la zona.

Para la recogida de muestras a analizar se realizó una sectorización de la zona del brote, dividiéndola en 21 zonas más o menos delimitadas y que ocupan tanto terrenos libres como cotos de caza. En cada



Figuras 32 y 33. Factores de riesgo relacionados con presencia de flebotomo. Mapeo de puntos con factores de riesgo. Basurero al borde de un camino.

año de campaña se han procurado recoger de cada zona de muestreo un mínimo de 20 animales por especie.

Por otro lado, se localizaron un total de 42 explotaciones ganaderas en el área de 3 km, de las cuales 32 tenían algún perro en el interior de la explotación de forma habitual.

El primer año se chequeó el 98,77% (animales adultos) y se obtuvieron algunos resultados positivos al test rápido de diagnóstico, resultado que luego fue confirmado con técnicas de inmunodiagnóstico en el Laboratorio Regional de Sanidad Animal. En 2013 se volvieron a chequear todos los animales y en años sucesivos se redujo la muestra al 50%, como se ha descrito. Los resultados en la Tabla 4.

Desinsectación y control biológico

En el año 2012 se inician los tratamientos de desinsectación en el interior de los parques Bosque Sur y Polvoranca, aplicando productos tanto adulticidas como larvicidas. En años posteriores, los esfuerzos se han centrado en los tratamientos adulticidas, obteniéndose buenos resultados en cuanto a la densidad de flebotomos en las localizaciones tratadas.

Por otro lado, se colocaron inicialmente 85 cajas nido para control biológico en Bosque Sur y parque

Polvoranca. Estas acciones han tenido resultado por la evidencia de colonización de las cajas para la cría de especies de aves como el herrerillo común o el carbonero. Sin embargo, no es posible valorar el impacto que haya podido tener sobre la densidad de flebotomos. Además, el vandalismo es otro factor limitante del uso de cajas nido, desapareciendo hasta un 25% de las cajas colocadas.

Sería posible estudiar la colocación de refugios para murciélagos de forma complementaria a las cajas de las aves, ya que hay especies autóctonas en la Comunidad de Madrid que se alimentan de insectos voladores a 1 m del suelo (como el flebotomo), su vuelo es nocturno, coincidiendo con la mayor actividad del vector y presentan una gran voracidad, incluso mayor que la de las aves insectívoras. Un murciélago puede ingerir en una noche hasta el 50% de su peso en mosquitos, lo que podría suponer la eliminación de millones de flebotomos, si se consigue la recuperación de colonias estables de estos mamíferos en el interior de los parques.

Medidas estructurales o de saneamiento ambiental

Las medidas de saneamiento ambiental, combinadas con el resto de medidas implementadas, han tenido un buen resultado *a priori*, pero el esfuerzo y la atención que suponen en algunos casos son desproporcionados.

Un ejemplo es el volumen de escombros retirados en el recorrido de los caminos que circulan cercanos a los parques de la Comunidad de Madrid o en la proximidad de polígonos industriales y de zonas de viviendas. En total, en el año 2012 se recogieron y se enviaron a vertederos de residuos inertes casi 900 m³ de escombros, con el consiguiente desembolso de tasas de gestión.

De esta manera, se ha encontrado imprescindible mantener en el tiempo una serie de medidas

Tabla 4
PERROS ANALIZADOS EN EXPLOTACIONES
GANADERAS

AÑO	Nº EXPLOTACIONES	Nº PERROS	POSITIVOS TEST
2012	32	80	4
2013	32	71	3
2014	13	35	0
2015	10	25	0



Figuras 34 y 35. Recorridos de nebulización y puntos tratados por pulverización de insecticidas en los parques Polvoranca y Bosque Sur.



Figuras 36 y 37. Control biológico con cajas anidaderas. Puesta en caja anidadera y pollos recién nacidos.

que son necesarias para combinar su efecto con el de las acciones relacionadas con la captura de conejos (desbroces) o con la desinsectación (cierre de red de pluviales) e ir atendiendo puntualmente a los hallazgos de la red de vigilancia.

Inspecciones en explotaciones ganaderas

En las explotaciones ganaderas investigadas es frecuente encontrar el estercolero propio de la habitual actividad de la explotación. Sin embargo, se



Figura 38. Retirada de escombros y basuras en el límite oeste de la parcela B3 de Bosque Sur.

observa que se realiza una adecuada gestión del estiércol. La mayor parte de los ganaderos declaran conocer las medidas de desparasitación de los animales y desinsectación de las instalaciones y las realizan periódicamente, destacando la aplicación de productos por pulverización de las paredes.

Dstrucción de vivares

La época de cría es la más difícil para la captura con hurón, ya que se entretienen dentro de las madrigueras con las crías, e incluso llegan a perderse en ocasiones por las galerías, registrándose bastantes bajas. Por lo tanto, es el mejor momento para cerrar vivares, sin entorpecer las actuaciones de captura.

Se ha combinado en algunos casos con intervenciones puntuales de levantamiento de tierras si las condiciones del terreno lo permitían.

Conclusiones

1. Necesidad de un modelo predictivo: la gran cantidad de factores que intervienen en este brote, tanto climatológicos, como ambientales y sociales, deben ser estudiados en su conjunto, ya que analizados por separado y a la vista de los resultados obtenidos de la vigilancia del vector, no arrojan conclusiones claras que permitan evaluar en el tiempo un plan de acción. Es decir, no existe posibilidad de predecir cuál va a ser el comportamiento de la enfermedad porque aún no se han encontrado los patrones que sigue la evolución del brote.

Debería ser prioritario el diseño de un modelo predictivo en el que apoyar las acciones para el control de la enfermedad y que se pudiera reproducir en otros territorios de similares características.

Con una modelización del brote se debería poder estratificar la zona afectada y asignar una categoría del riesgo por cada estrato, implantando de esta manera medidas más específicas.

2. Estudio de la ecología del flebotomo: si bien es cierto que la combinación de todas las actuaciones abordadas durante estos años ha posibilitado la disminución de los casos, no es posible evaluar qué porcentaje de éxito es achacable a cada una de ellas.

No se conoce con precisión el comportamiento del vector, si tiene mayor afinidad por determinados hábitats o por determinada vegetación, o la distancia a la que es capaz de desplazarse, o la dirección... Estudiar este comportamiento, podría ayudar a dosificar correctamente la aplicación de medidas en el momento y lugar adecuado.

3. Nuevas estrategias de control químico y biológico: más concretamente, los tratamientos de desinsectación son una parte importante de esos recursos que se están destinando a la lucha contra el vector. Sin embargo, su aplicación está restringida a los productos autorizados actualmente para uso ambiental, que son de baja residualidad, lo que limita su eficacia prácticamente al momento mismo de su aplicación, de ahí que se deban utilizar al anochecer.

Pero, por otra parte, con los productos de mayor residualidad no se tiene la certeza de que no se comporten como repelentes produciendo una rápida disminución de la densidad, que se recuperaría de nuevo más tarde.

Otro punto conflictivo es la posibilidad de crear resistencias. Todo apunta, por lo tanto, a la necesidad de establecer nuevas estrategias en la desinsectación.

En un control vectorial, la lucha se suele enfocar en dos direcciones: las larvas y los adultos. Mientras el control químico se dirige, generalmente, hacia los adultos, el punto crítico es la localización e identificación de los lugares donde encontrar los estados larvarios para poder aplicar los productos adecuados o las medidas estructurales más eficaces.

Una vez localizados, sería necesario monitorizar

los lugares de cría y hacer un seguimiento de la densidad de las larvas para aplicar los tratamientos correctos en el momento preciso.

4. Explorar nuevas posibilidades en biotecnología: se podrían valorar estrategias de lucha biológica mediante la producción a gran escala de machos estériles de flebotomo, al igual que se hace con otras especies de insectos dañinas fundamentalmente para la agricultura. Sin embargo, los resultados se verían a más largo plazo, ya que se requeriría la producción en laboratorio de millones de individuos para su suelta. Es, por tanto, un proceso costoso y más lento.

5. Mantener las actuaciones disuasorias frente a los reservorios: es imprescindible mantener el esfuerzo en la eliminación de reservorios silvestres y al mismo tiempo modificar el hábitat como medida de presión. Sin embargo, hay determinadas localizaciones que deben estudiarse individualmente, o bien porque se asientan en antiguas escombreras o vertederos, o bien su superficie lo hace prácticamente inabarcable y tremendamente costoso. Es el caso del mirador de Roturas del Culebro, formado a partir del antiguo vertedero de Leganés. Sería necesario buscar soluciones imaginativas y viables económica y socialmente para la clausura de este viver de gigantescas proporciones. Se podrían plantear opciones extrapolables a otras localizaciones con pendiente, como los taludes de las carreteras. Se podría optar por la utilización de mantos mineralizantes, que se extienden por la superficie como una capa de cemento, impidiendo el crecimiento de vegetación y la posibilidad de horadar el terreno.

Sin embargo, además de suponer una solución demasiado costosa, el impacto sobre el paisaje sería más que evidente en una superficie como la del mirador.

Por lo tanto, sería necesario estudiar e investigar otras soluciones que a medio o largo plazo pudieran mantener alejada a la población de conejos de estos enclaves.

ANÁLISIS ESPACIAL Y CONDICIONANTES TERRITORIALES DEL BROTE DE LEISHMANIASIS EN EL SUR DEL ÁREA METROPOLITANA DE LA COMUNIDAD DE MADRID (2009-2014)

Emiliano Aránguez y Andrés Iriso

Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid.

En el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de la Comunidad de Madrid se declararon 586 casos de leishmaniasis con fecha de inicio de síntomas entre el 1 de julio de 2009 y el 30 de junio de 2014 en los municipios de Fuenlabrada, Getafe, Leganés y Humanes de Madrid.

La cartografía de los domicilios de los casos ¹ puso de manifiesto que, durante el periodo de estudio, la mayor parte se localizaron en el norte de Fuenlabrada (figura 1).

El análisis espacial de la distribución de tasas brutas por sección censal suavizadas mediante el método de densidades focales (densidad Kernel ²) confirmó este patrón, con valores mucho más altos en el norte del casco urbano de Fuenlabrada que en el resto del territorio (figura 2).

Una agregación espacial (clúster) prácticamente continuo de tasas altas se encontró en las secciones censales ubicadas en esa zona (figura 3).

Los trabajos de control ambiental desarrollados indicaron que en zonas próximas a los domicilios de los casos se registraban densidades muy altas de flebotomos y prevalencia relativamente elevada de leishmaniasis en lagomorfos. Esto condujo a pensar que la exposición principal ocurría en su entorno domiciliario o peridomiciliario.

El presente trabajo tiene por objeto exponer el análisis espacial de la distribución del vector y de los reservorios, muy unida a las características del territorio, así como describir la actuaciones de control ambiental del brote que se han adoptado como consecuencia de este análisis.

El análisis espacial ha permitido orientar las actuaciones de prevención y control del brote y continúa siendo de gran utilidad en la evolución del mismo.

Características y evolución histórica reciente del territorio en el que se ubica el brote

La zona con mayor concentración de casos, vectores y reservorios de leishmaniasis coincidió espacialmente con áreas residenciales periféricas e inmediatas al parque periurbano de Bosque Sur. Muy próximo también, aunque no inmediato, se encuentra el parque Polvoranca. Ambos parques están ubicados en un territorio surcado por importantes infraestructuras de comunicaciones. Las zonas habitadas más próximas a Bosque Sur, son el propio casco urbano de Fuenlabrada, el barrio de Arroyo de Culebro en Leganés y el barrio residencial del Sector 3 de Getafe.

El análisis espacial ³ de la distribución de los casos parece indicar que las infraestructuras viarias podrían haber tenido un papel decisivo en la distribución espacial del brote comportándose de diferentes maneras: barreras territoriales que aíslan en cierta medida a varios núcleos urbanos de la exposición al patógeno (Arroyo Culebro y Sector 3), vías de penetración del vector en el interior de otros núcleos o generadores de un entorno de hábitats idóneos para reservorios y vectores.

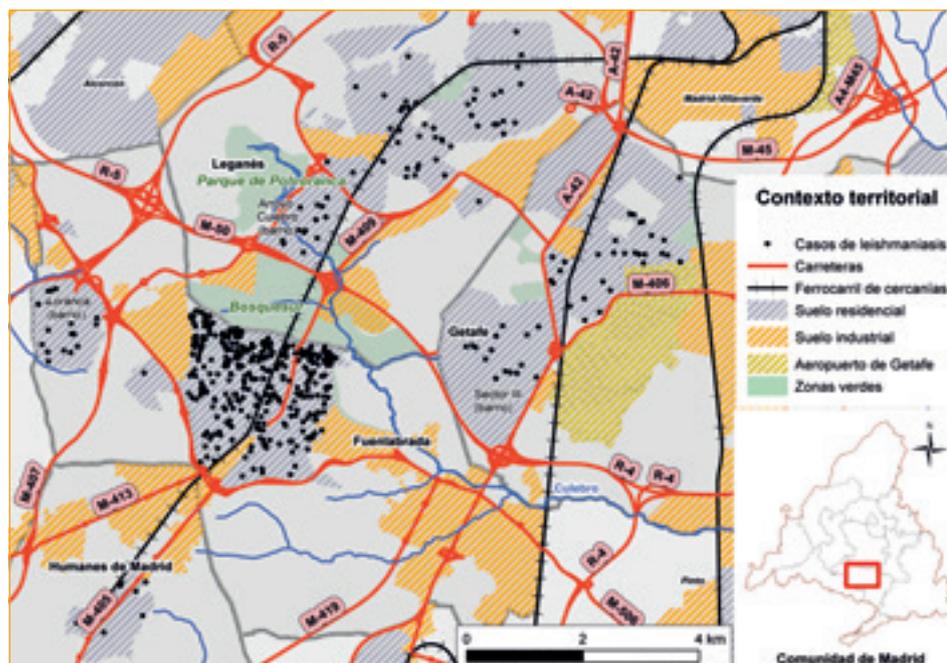


Figura 1. Distribución de casos y principales determinantes territoriales.

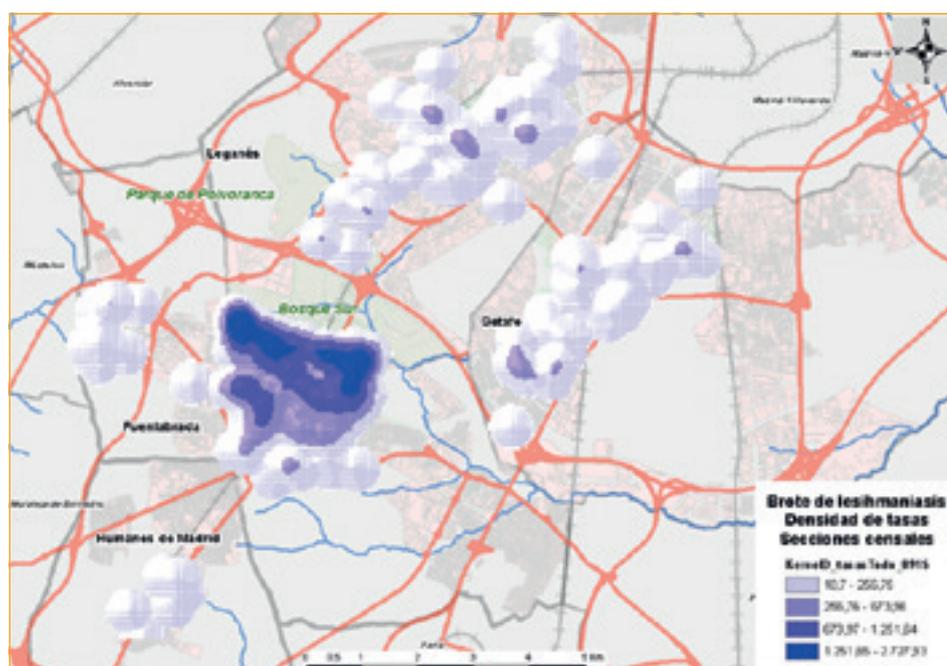


Figura 2. Densidad Kernel de las tasas brutas de leishmaniasis por sección censal.

La configuración territorial en la zona del brote tal como hoy se presenta es relativamente reciente. Resulta interesante hacer un seguimiento histórico de este territorio centrado en lo que hoy es Bosque Sur utilizando imágenes aéreas de 1956, 1975, 1991, 2001 y 2006 (fotografías aéreas e imágenes de satélite disponibles en el visor cartográfico del Instituto de Estadística de la Comunidad de Madrid ⁴⁾ (figuras 4-8).

En la primera imagen se comprueba cómo hasta finales de los años sesenta del siglo pasado, el uso predominante del suelo es el agrario. La población se concentra en núcleos rurales y relativamente pequeños. Getafe es en ese momento el núcleo más

grande debido fundamentalmente a la presencia de varios elementos infraestructurales destacados: el aeródromo y los ferrocarriles y carreteras que unen Madrid con Toledo y con Andalucía. Aunque las líneas de comunicaciones que se dirigen a Andalucía están alejadas del caso urbano, permiten el desarrollo de algunas instalaciones industriales ya en los años cincuenta a la altura del cerro de los Ángeles.

En 1975 tanto Getafe como Leganés han llevado a cabo desarrollos urbanísticos de suelo industrial y residencial. En ambos casos este crecimiento está orientado hacia el norte, en dirección a la ciudad de Madrid. Fuenlabrada también ha experimentado un

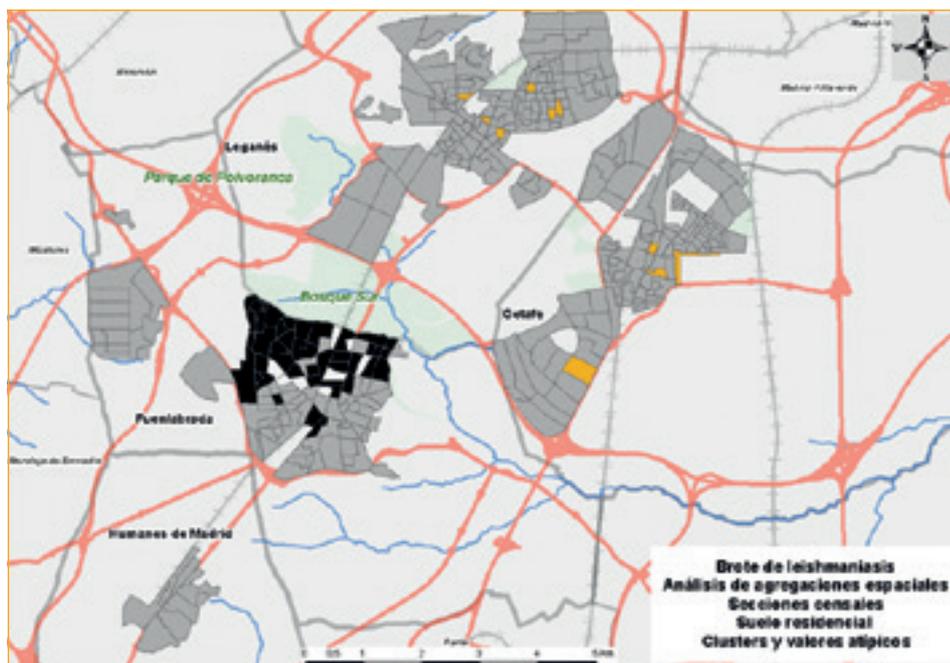


Figura 3. Análisis de clúster de las tasas brutas de leishmaniasis por sección censal.

crecimiento urbano sobre todo de suelo industrial hacia el este, buscando la carretera de Toledo, y hacia el noroeste. Apenas algunas viviendas se han construido al norte del caso urbano. Es decir que a mitad de la década de los setenta la zona más próxima al brote, el espacio existente entre los núcleos de población de Fuenlabrada, Leganés y Getafe eran campos de labor surcados por el Arroyo Culebro que fluye de noroeste a sureste.

En 1991, centrando el interés en esa zona del "epicentro" del brote, se aprecian algunos cambios reseñables. En primer lugar, el desarrollo residencial del casco urbano de Fuenlabrada ha llegado al límite norte del término municipal en la frontera con

Leganés. Por su parte, en Getafe se ha poblado la urbanización del Sector 3, en la margen derecha de la carretera de Toledo, muy próximo a los límites de Leganés y Fuenlabrada. En el término municipal de Leganés ya aparece un gran parque periurbano, el parque Polvoranca. El territorio del actual Bosque Sur sigue teniendo un uso agrícola y está atravesado de norte a sur por las vías de comunicaciones existentes con anterioridad: la carretera M-409 que enlaza Fuenlabrada con Leganés y la paralela línea C-5 de cercanías que utiliza el trazado del ferrocarril preexistente.

En 2001 los nuevos elementos infraestructurales son la carretera M-407, paralela por el oeste a la 409,

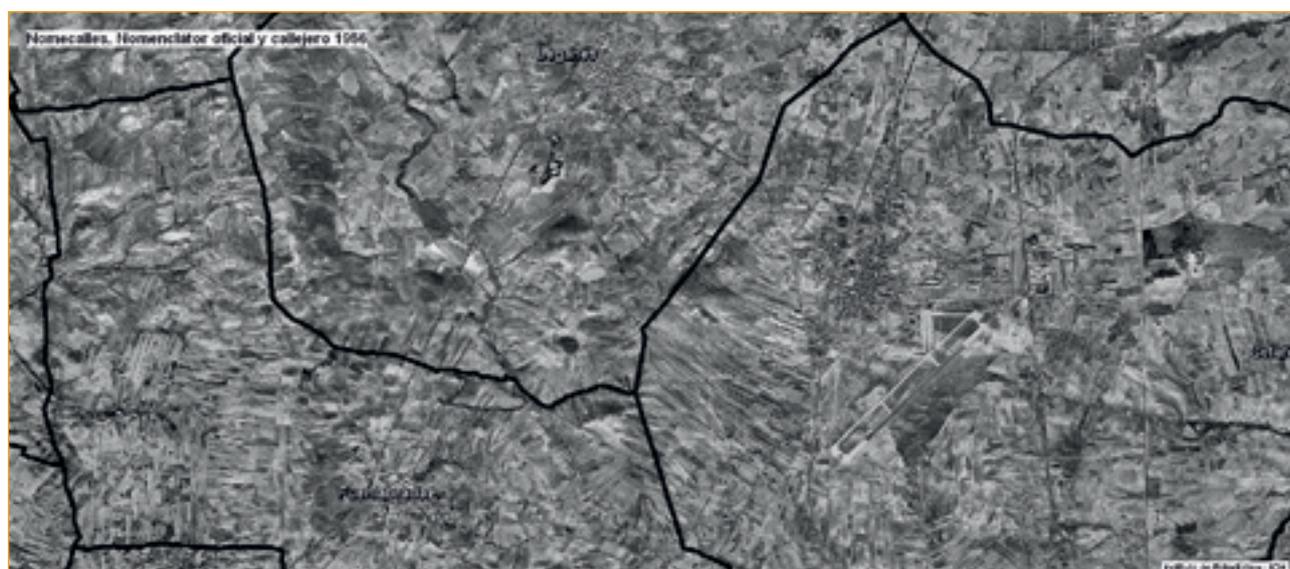


Figura 4. El territorio del brote en 1956⁴.



Figura 5. El territorio del brote en 1975⁴.



Figura 6. El territorio del brote en 1991³.

y la M-50, que en ese momento solo llega hasta el cruce con esta última. El resto del trazado de esta autovía de circunvalación, así como el de la autopista radial R-5 está ya en obras. Las tres carreteras son de varios carriles en cada sentido. Por su parte, en lo que respecta al suelo residencial, se ha urbanizado el barrio de Arroyo Culebro, aunque aún no hay población residente. También hay que señalar que ese año ya están ubicadas en la esquina del Naranjo las instalaciones deportivas y educativas presentes en la actualidad y algunas industrias agroalimentarias aisladas en el entorno de la M-409.

La siguiente imagen disponible es de 2006. La M-50 se ha completado, con mayor anchura de la que traía hasta la M-409, ya está habitado el barrio de Arroyo Culebro de Leganés, al norte de la M-50 y

se han diseñado y desarrollado las zonas industriales de Dehesillas y El Portillo, al Norte de la M-50 y el polígono de la Laguna e Industrial Sur M-50, al sur de esta autovía. El resto del territorio comprendido entre la M-50 y el caso urbano de Fuenlabrada lo ocupa lo que se conoce a partir de entonces como Bosque Sur, parque diseñado y construido entre 2005 y 2011 como un parque periurbano que utiliza las potencialidades naturales del paisaje en lo que respecta a vegetación, fauna y red fluvial para contrarrestar un entorno tan fuertemente urbanizado e industrializado.

En años posteriores, además de las obras de acondicionamiento paisajístico de Bosque Sur, se ha consolidado el suelo industrial mencionado en el entorno de la autovía de circunvalación y se ha ampliado la urbanización del Sector 3 de Getafe.



Figura 7. El territorio del brote en 2001⁴.



Figura 8. El territorio del brote en 2006⁴.

Como se ha indicado en la introducción, se considera periodo epidémico desde la primavera de 2009 momento en el que el territorio presentaba ya las características estructurales actuales que se pueden resumir con las siguientes líneas maestras: alta densidad de población (la población de los tres municipios ubicados en la zonas central del brote ha crecido desde los 32.000 habitantes de 1960 hasta 560.000 de 2013) y extensos parques periurbanos separados por anchas vías de comunicación de los núcleos habitados, salvo en el caso de Fuenlabrada donde el parque de Bosque Sur está unido a los edificios de viviendas sin solución de continuidad.

Respecto a la población residente en estos municipios, de acuerdo con el desarrollo urbanístico e industrial observado, a partir de 2001 se supera la ci-

fra de 150.000 habitantes en Fuenlabrada, Leganés y Getafe, que por cierto, han invertido el orden de 1960 cuando Getafe era el núcleo más poblado (figura 9).

Distribución del vector. Densidades de flebotomos

Se analizan a continuación las densidades del vector en puntos muestreados de mayo a octubre de los años 2011, 2012, 2013 y 2014 (figuras 10 a 13).

En el año 2011 se estimó la densidad en función de estaciones de muestreo (varias trampas en cada estación). Posteriormente, se redirigió la vigilancia y los datos de 2012 a 2014 hacen referencia a las trampas individuales (consultar el capítulo de Vigilancia del vector).

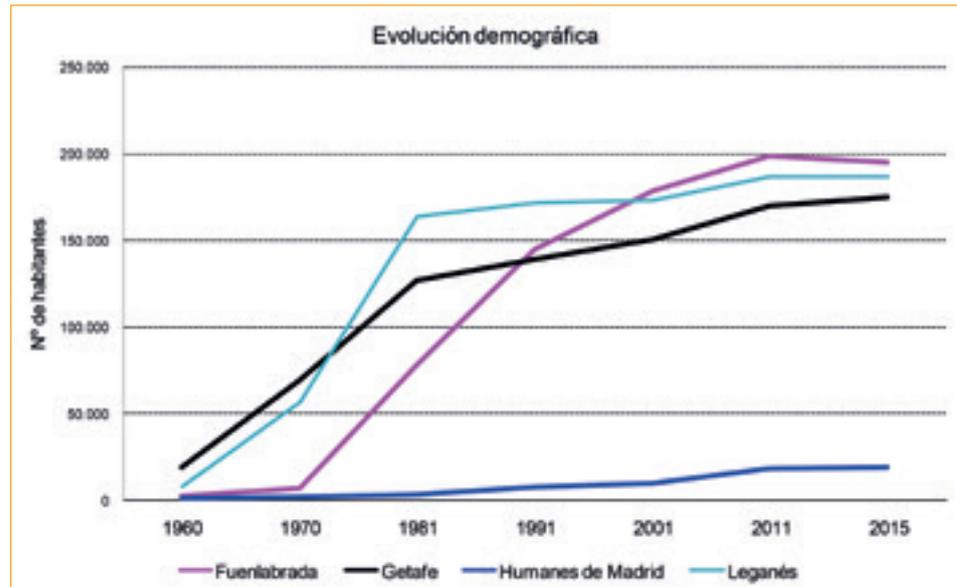


Figura 9. Evolución de la población de los municipios de la zona del brote.

La densidad de flebotomos se ha cartografiado mediante un mapa temático con la densidad de especímenes por metro cuadrado, obtenida en los puntos muestreados. En el caso del parque Polvoranca y con el fin de aminorar su peso en el mapa, al ser el lugar más alejado de cualquier núcleo de población, se ha seleccionado un solo punto de los muestreados y se le ha asignado el promedio de densidades de todos los puntos ubicados en el parque.

Las mayores densidades se sitúan en las zonas periféricas de los núcleos urbanos: norte de Fuenlabrada, Loranca y Humanes, sur del barrio de Arroyo Culebro de Leganés y oeste del Sector III de Getafe, además del parque Polvoranca como se ha mencionado. Hay que destacar que en los dos últimos años

ha aumentado el número de trampas sin capturas en zonas interiores de los núcleos urbanos.

Para poder comparar los resultados de los cuatro años, se han cartografiado los centros geométricos o puntos medios de las nubes de puntos de muestreo y los centros de gravedad, ponderando en este caso el centro geométrico con el valor de densidad obtenido en cada punto (figura 14).

Como se ha mencionado más arriba, los datos de 2011 no son directamente comparables. De hecho, mientras los centros geométricos de las nubes de puntos de muestreo de 2012 a 2014 están muy próximos entre sí, lo que indica una red de muestreo de similar representatividad espacial, el de 2011 está a 1100 m del más cercano. Además, la distancia

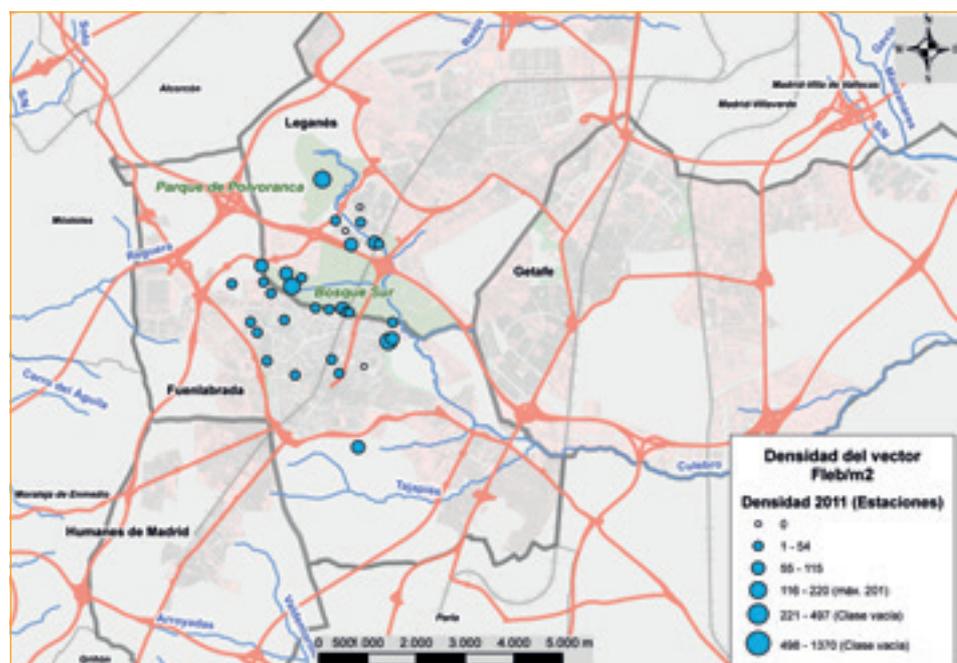


Figura 10. Densidad de flebotomos en 2011.

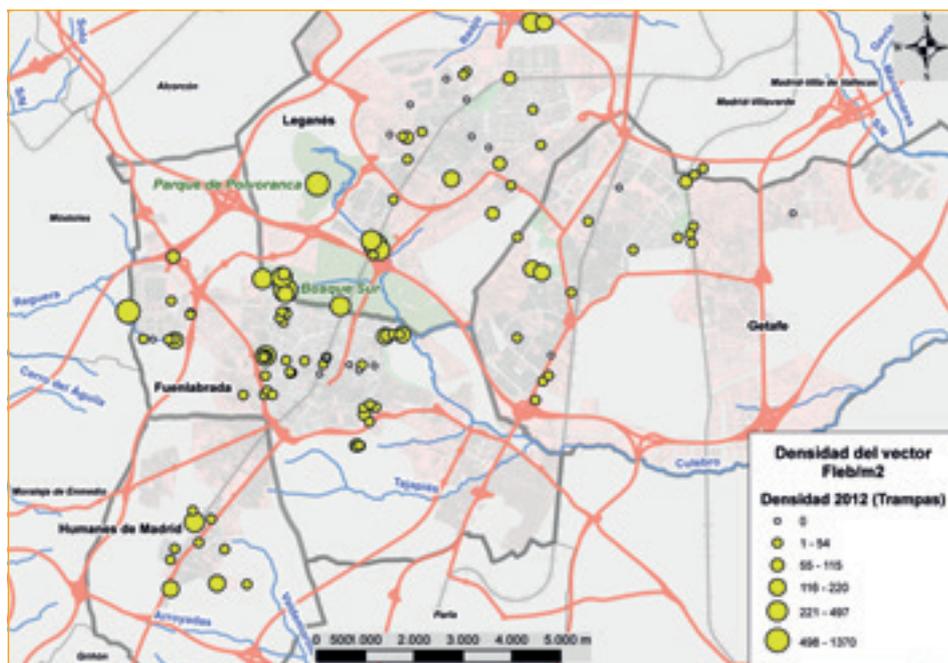


Figura 11. Densidad de flebotomos en 2012.

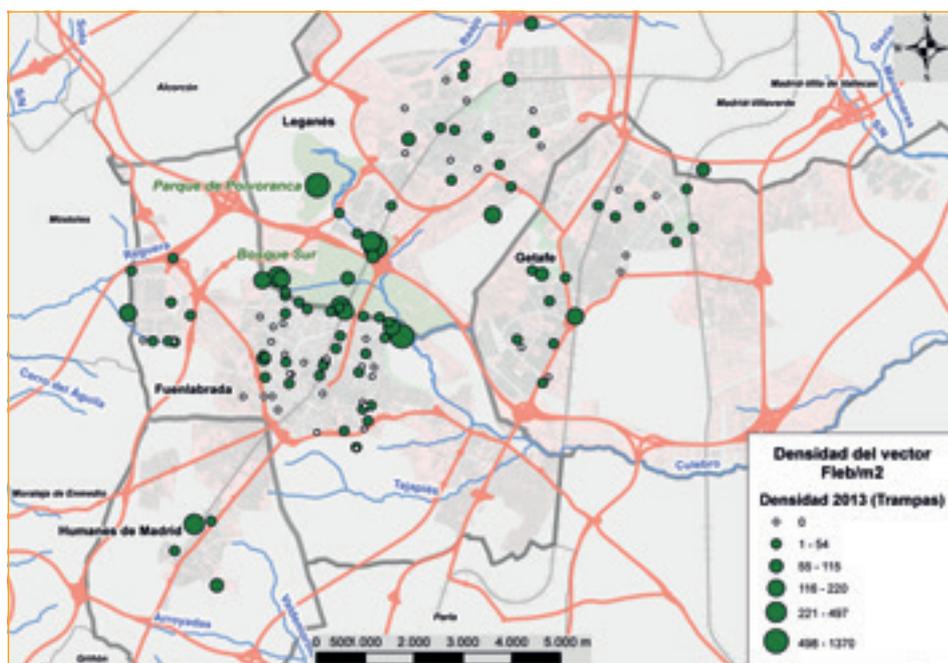


Figura 12. Densidad de flebotomos en 2013.

entre ambos puntos, centro geométrico y de gravedad, es muy pequeña en 2011, lo que significa una distribución de densidades aproximadamente concéntrica.

El resto de los años sí que presentan una dirección de la recta imaginaria que une centro geométrico y centro de gravedad hacia el noroeste, aunque también básicamente concéntrica pues las distancias entre ambos puntos de cada periodo no son excesivas teniendo en cuenta la amplitud del territorio muestreado. El sesgo hacia el noroeste está relacionado sin duda con el peso de las densidades de flebotomos en el parque Polvoranca.

Respecto a la evolución de esta distribución de densidades a lo largo de los cuatro años cabe apreciar una ligera tendencia suroeste-noreste, probablemente como consecuencia de la mayor intervención en la frontera norte del municipio y núcleo habitado de Fuenlabrada que es donde el brote ha presentado mayor virulencia.

Además de la distribución general de las densidades de flebotomos, es necesario conocer a una escala mayor la ubicación del vector en un espacio concreto. Los estudios de detalle facilitan esta aproximación. Se han acometido 61 estudios de detalle en 37 áreas diferentes desde 2012 a 2014. En la si-

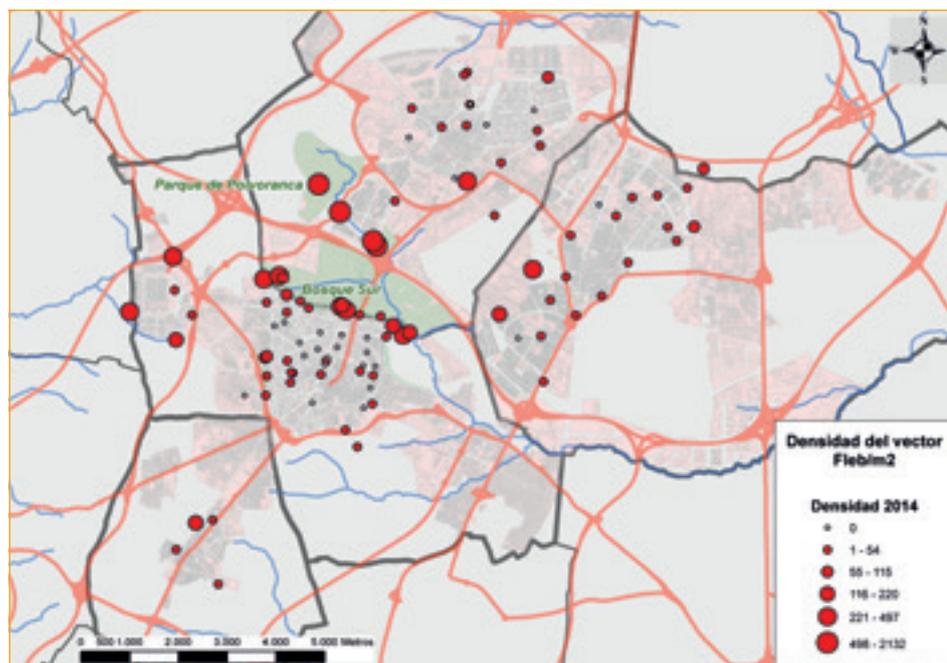


Figura 13. Densidad de flebotomos 2014.



Figura 14. Evolución de densidades a lo largo del periodo de estudio.

guiente imagen se observa cómo se distribuye la densidad en un centro educativo ubicado en el borde de Bosque Sur (figura 15).

Reservorios

1. Medio periurbano

1.1. Presencia de liebres y conejos en las proximidades de los núcleos urbanos

Ya ha quedado dicho que la zona de brote es territorio tradicional de caza de liebres y conejos que

han resultado ser piezas fundamentales, sobre todo las primeras, en el puzle que completa el ciclo de la enfermedad.

Se han localizado y cartografiado casi seis mil vivares de conejos en los municipios declarados zona de brote y en áreas adyacentes. Algunos de los vivares son complejos con hasta 60 bocas y se localizan preferentemente en los taludes de las márgenes de las vías de comunicación. Como en el resto de las actividades de vigilancia, esta se ha intensificado en las zonas más próximas a los domicilios de los casos por lo que la búsqueda ha sido



Figura 15. Estudio de detalle realizado en el Instituto de Enseñanza Secundaria Victoria Kent.

casi exhaustiva en el entorno de las áreas residenciales de Fuenlabrada como se puede observar en el siguiente mapa (figura 16).

La vigilancia activa ha conseguido también verificar la presencia frecuente y ubicua de liebres en el entorno de las zonas urbanas como se puede observar en el siguiente mapa (figura 17).

1.2 .Prevalencia en lepóridos

Los datos de prevalencia de infección por *Leishmania* en fauna silvestre (conejo - *Oryctolagus cuni-*

culus- y liebre- *Lepus granatensis-*) se han obtenido a partir de muestreos aleatorios realizados en las zonas de captura de los parques periurbanos y otras zonas de los municipios incluidos en el territorio epidémico y limítrofes. Se ha estudiado la presencia de *Leishmania spp.* en muestras de sangre de los animales capturados, mediante PCR anidada.

Los resultados de la prevalencia, expresados en porcentajes de muestras positivas sobre el total de capturas figura en las tablas 1 y 2 y mapas siguientes (figuras 18-25).

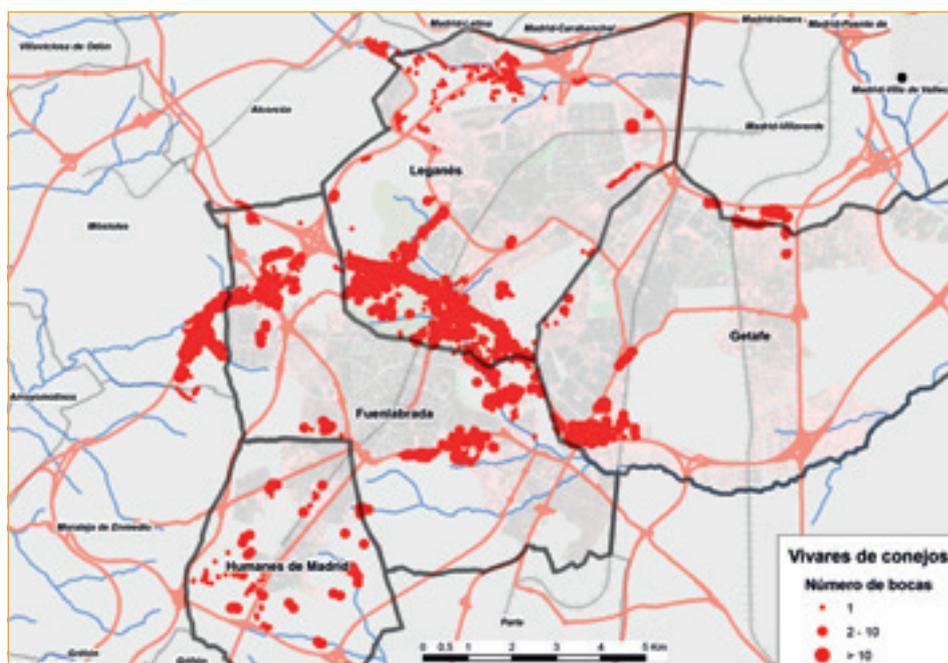


Figura 16. Vivares de conejos.

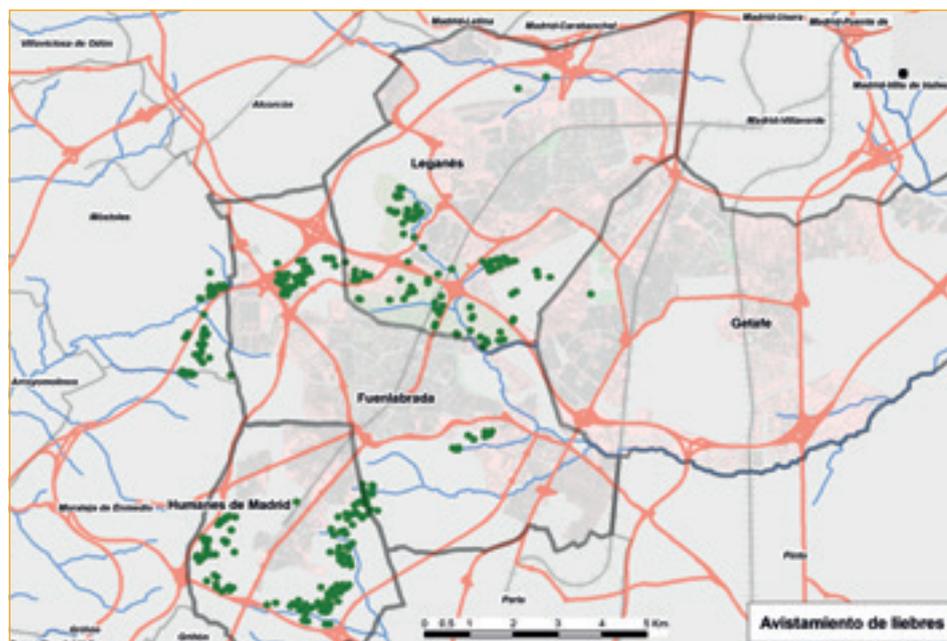


Figura 17. Avistamientos de liebres.

En lo que se refiere a liebres hay que destacar que aparece infestación siempre que se han tomado muestras en Bosque Sur, en el norte de Fuenlabrada y en Polvoranca, tanto en el parque como en la zona circundante. En Bosque Sur la prevalencia ha descendido en el último año, aunque se mantiene en un 25%, mientras ha aumentado en Polvoranca y el norte de Fuenlabrada. En todo el periodo considerado solo se ha registrado una prevalencia superior al 50%, pero se debe a la infestación del único ejemplar capturado en 2013 en La Fortuna al norte de Leganés

Por su parte, la prevalencia en conejos parece haber ido subiendo y destaca que en el año 2014 solo en dos zonas de las 13 muestreadas se han obtenido resultados negativos (y en una de ellas, Butarque, solo se tomaron tres muestras).

2. Medio urbano

2.1. Prevalencia en perros

Al ser el perro el reservorio clásico de la Leishmaniasis, en colaboración con las clínicas veterinarias de la zona del brote se han estudiado los perros positivos a *Leishmania* y su posible relación con casos humanos. Para ello se han elaborado diferentes mapas georreferenciando dichos animales y los casos humanos cercanos durante el período del brote, no apreciándose ningún patrón espacial.

A su vez la vigilancia serológica realizada desde 2011 las prevalencias que se ha observado en los perros han sido bajas. Esto volvería a confirmar que en el brote estos animales no están jugando un papel principal como reservorios activos de la enfermedad.

Tabla 1
PORCENTAJE DE POSITIVOS EN LEISHMANIOSIS EN LIEBRES. 2011-2014

Liebre (<i>Lepus granatensis</i>)	2014		2013		2012		2011	
	Capturas	+(%)	Capturas	+(%)	Capturas	+(%)	Capturas	+(%)
Bosque Sur	28	25,0	23	39,1	77	37,7	33	33,3
La Fortuna. Leganés	6	16,7	1	100,0	0	-	0	-
M-50 y Urbanización Arroyo Culebro	2	0,0	0	-	0	-	0	-
Norte de Fuenlabrada (M-11053)	31	35,5	0	-	10	10,0	0	-
Parque Polvoranca	26	46,2	5	20,0	34	11,8	0	-
Sur de Fuenlabrada (M-10765)	3	33,3	0	-	3	0,0	0	-
URJCI_Alcorcón	0	-	0	-	10	0,0	0	-
URJCI_Fuenlabrada	0	-	5	0,0	5	0,0	0	-
Zona Libre de Alcorcón y coto M-11023	0	-	0	-	23	17,4	0	-
Zona Libre de Fuenlabrada (Los Nogales)	0	-	0	-	2	0,0	0	-
Zona Libre de Leganés (Polvoranca)	9	11,1	19	42,1	11	27,3	0	-

Tabla 2
PORCENTAJE DE POSITIVOS EN LEISHMANIOSIS EN CONEJOS. 2011-2014

Conejo (<i>Lepus granatensis</i>)	2014		2013		2012		2011	
Nombre de la zona de muestreo	Capturas	+ (%)						
Base aérea de Getafe	19	0,0	0	-	0	-	0	-
Bosque Sur	64	28,1	22	18,2	20	0,0	1	100,0
Cantueña	20	10,0	0	-	12	0,0	0	-
La Fortuna. Leganés	30	13,3	1	100,0	0	-	0	-
M-50 y Urbanización Arroyo Culebro	21	14,3	5	0,0	0	-	5	0,0
Norte de Fuenlabrada (M-11053)	66	25,8	0	-	0	-	0	-
Parque de Loranca	20	40,0	0	-	0	-	0	-
Parque lineal Arroyo Culebro (Getafe)	21	4,8	48	14,6	0	-	0	-
Parque Polvoranca	17	23,5	4	75,0	12	16,7	0	-
Sur de Fuenlabrada (M-10765)	54	22,2	0	-	11	18,2	0	-
Zona Libre de Leganés (Bosque Sur)	20	45,0	19	26,3	0	-	0	-
Zona Libre de Leganés (Polvoranca)	23	4,3	0	-	0	-	0	-
Butarque	3	0,0	0	-	0	-	0	-
M-50	20	35,0	57	35,1	0	-	16	12,5

2.2. Presencia de colonias de gatos

Se han explorado también las colonias de gatos en Fuenlabrada y Leganés como posibles focos relacionados con la enfermedad. Se ha procedido a detectar el número de casos en un radio de 300 m. alrededor de las poblaciones felinas. Se consideran los casos de todo el periodo en tres escenarios: A) Todas las colonias; B) Las colonias situadas en Fuenlabrada a más de 300 metros de Bosque Sur y C) Las colonias situadas en Fuenlabrada a más de 500 metros de Bosque Sur y simultáneamente a más de 300 metros del ferrocarril de cercanías (figuras 26 a 29). La elección de estos umbrales deriva del análisis de proximidad

que evidenció un gradiente de las tasas brutas de leishmaniasis decreciente al aumentar la distancia de los domicilios a Bosque Sur y al trazado del tren de cercanías³. Además, la literatura avala los 300 metros como distancia máxima de vuelo del flebotomo⁵.

En Leganés no se aprecia un patrón de distribución espacial que permita sospechar que cerca de los lugares ocupados por las colonias de gatos detectadas haya más casos de leishmaniasis humana que en el resto del territorio. Tampoco se aprecia un patrón espacial concreto de la distribución de las colonias que presentan mayor número de casos en su entorno.

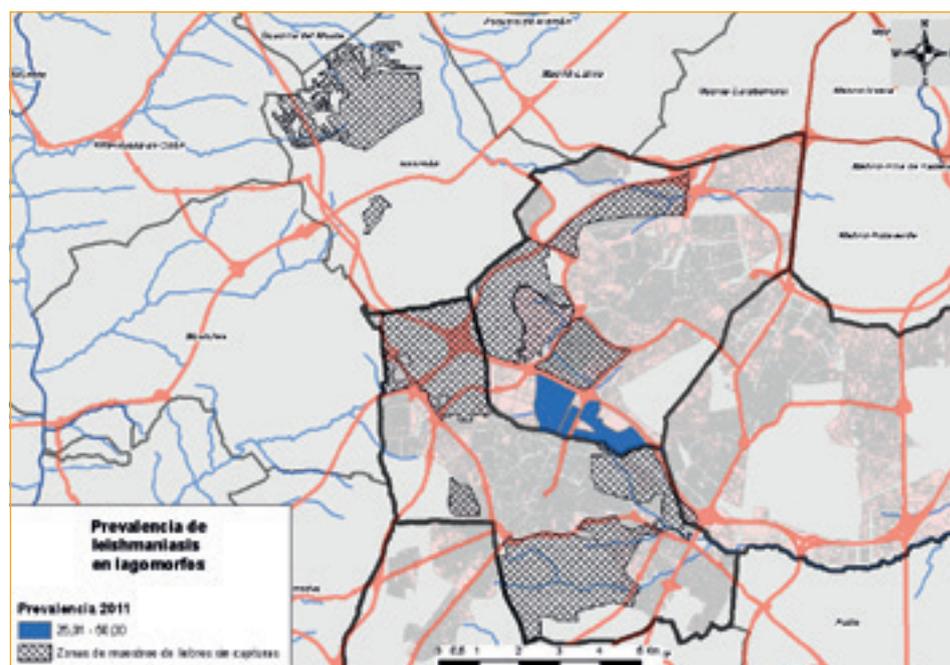


Figura 18. Prevalencia de leishmaniasis en liebres. 2011.

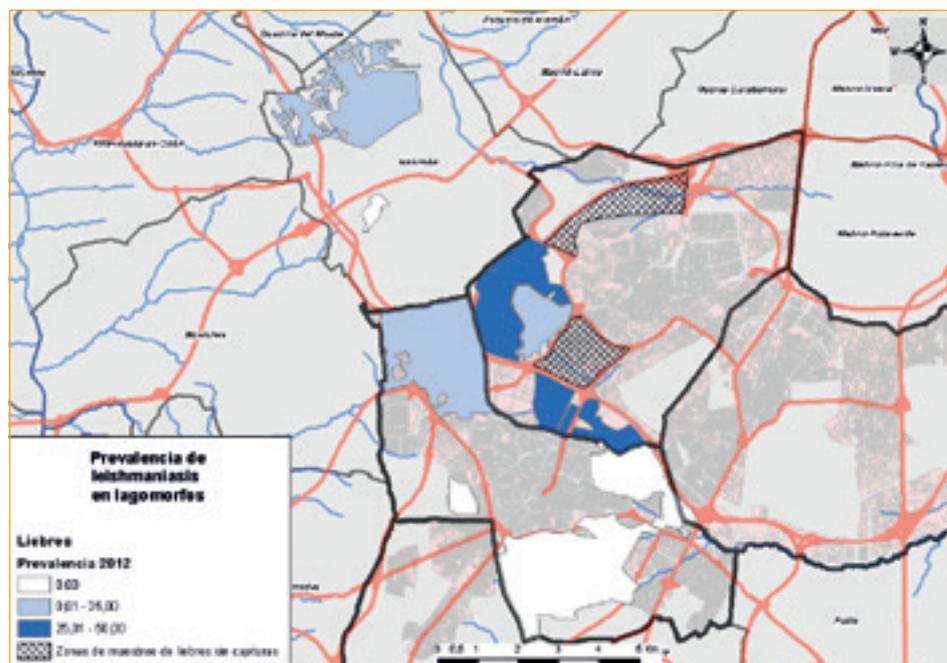


Figura 19. Prevalencia de leishmaniasis en liebres. 2012.

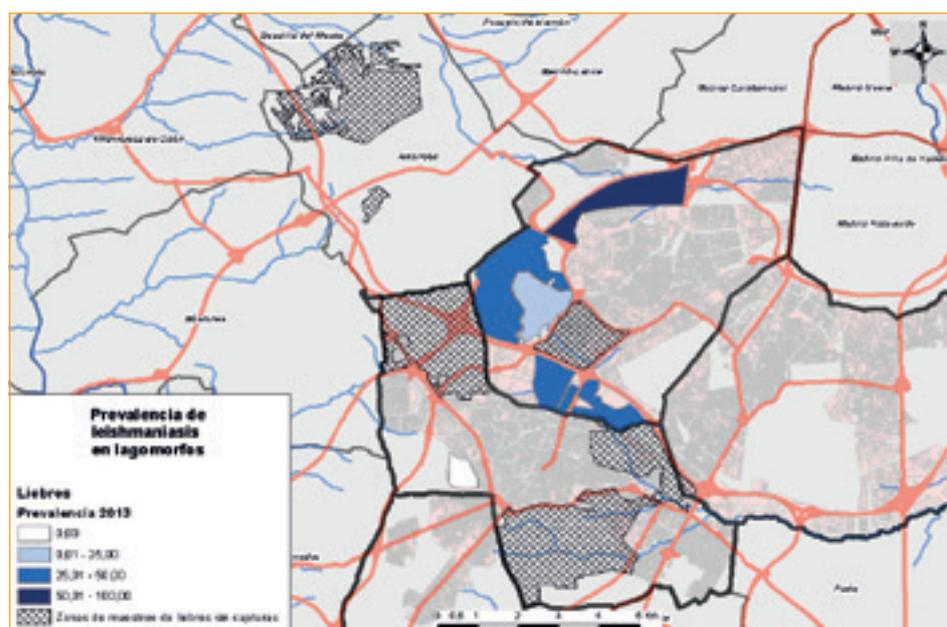


Figura 20. Prevalencia de leishmaniasis en liebres. 2013.

Sin embargo, en Fuenlabrada sí se observa el gradiente norte-sur. Hay más casos próximos a las colonias situadas más al norte. Este patrón se mantiene al excluir las colonias a menos de 300 metros de Bosque Sur y a menos de 500 m de Bosque Sur y, a la vez, a menos de 300 m del ferrocarril de cercanías.

Este obstinado gradiente norte-sur parece indicar que la presencia de casos de leishmaniasis depende de la cercanía a Bosque Sur, más que de la presencia de gatos que pudieran actuar de reservorios. La importancia de los gatos en el desarrollo espacial del brote podría estar relacionada con la oportunidad que ofrecen a los vectores como fuente de alimentación en el interior de los núcleos urbanos.

Mapa de síntesis: territorio y ciclo de la enfermedad

Aun conscientes de la dificultad visual que esto comporta, intentamos unir en una sola imagen la información referida al territorio, a los factores de riesgo (presencia de vectores y de reservorios) y a los efectos (casos de leishmaniasis) en una visión sintética del ciclo de la enfermedad (figuras 30-32).

La zona con mayor concentración de casos coincide espacialmente con la presencia simultánea de varios fenómenos: alta densidad de flebotomos en la periferia de las zonas habitadas, alta prevalencia (relativa) de leishmaniasis en liebres y

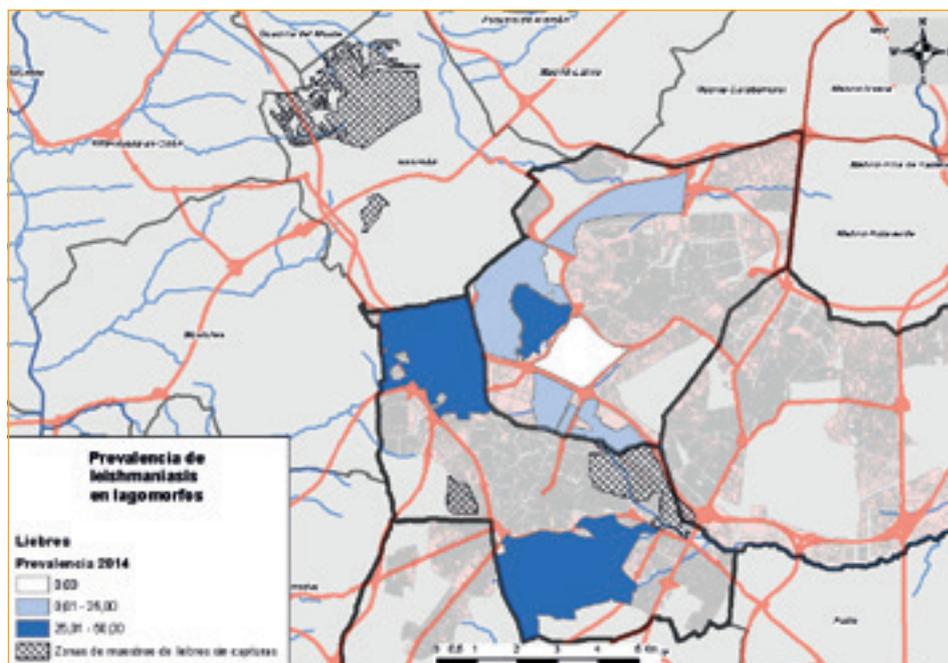


Figura 21. Prevalencia de leishmaniasis en liebres. 2014.

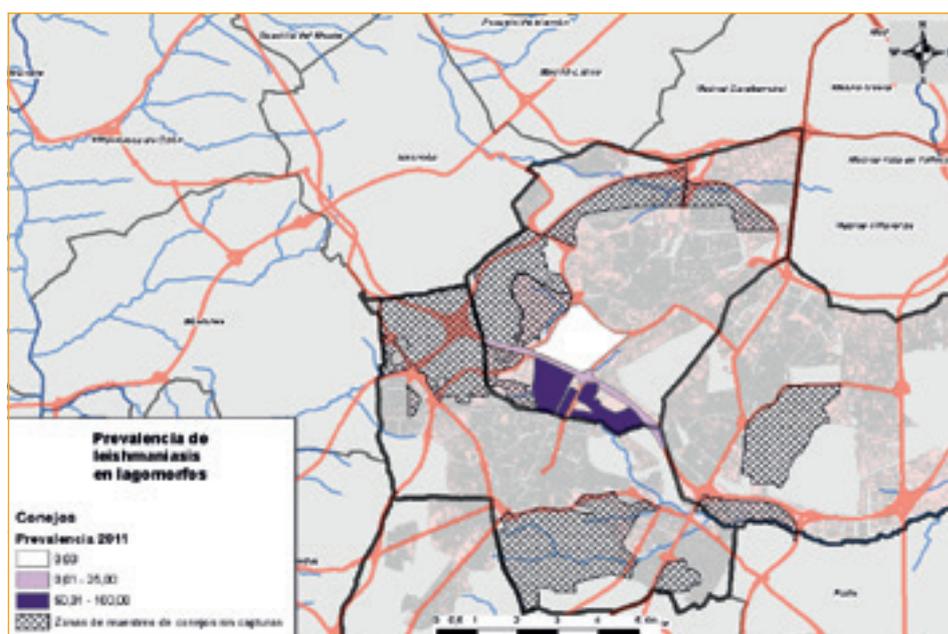


Figura 22. Prevalencia de leishmaniasis en conejos. 2011.

ausencia de barreras territoriales. Esto se produce al norte del suelo edificado del casco urbano de Fuenlabrada, junto al límite del término municipal. Obsérvese que no hay ningún obstáculo entre la población y los potenciales factores de riesgo, mientras que en el sur, el casco urbano está ceñido por la M-506, autovía de varios carriles y desdoblada en varios puntos, es decir, conformando una barrera ancha y agitada por el tráfico. Además, en el sur se han detectado menos resultados positivos en liebres.

El mismo efecto barrera se puede suponer en el barrio de Arroyo Culebro, en Leganés, muy cercano tanto al parque Polvoranca como a Bosque Sur,

pero separado de ellos por anchas autovías: M-407 y M-50 y en el barrio de parque Loranca en el oeste del término municipal de Fuenlabrada, separado de las zonas en las que se ha detectado prevalencia en liebres por la M-506 y la R-5. Quizás estas barreras están evitando que los casos de leishmaniasis en esas zonas sean más numerosos.

No obstante, como se ha visto¹, el barrio de Arroyo de Culebro y el Sector 3 de Getafe presentan agregaciones de casos significativos en el contexto municipal, seguramente por su proximidad a Bosque Sur por lo que parece confirmarse este espacio como el principal foco.

Esta conclusión se refuerza si se superponen las

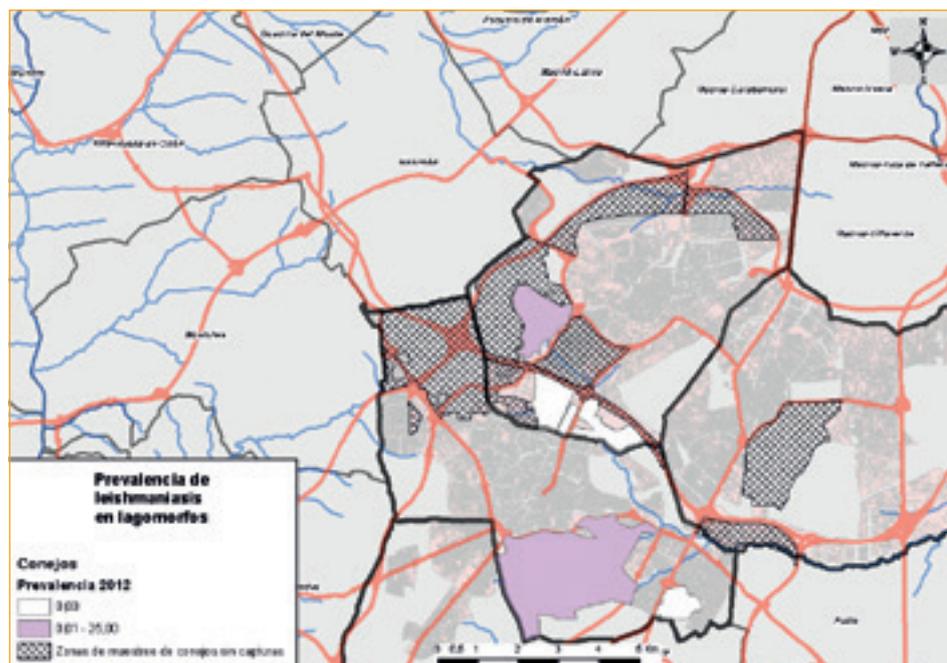


Figura 23. Prevalencia de leishmaniasis en conejos. 2012.

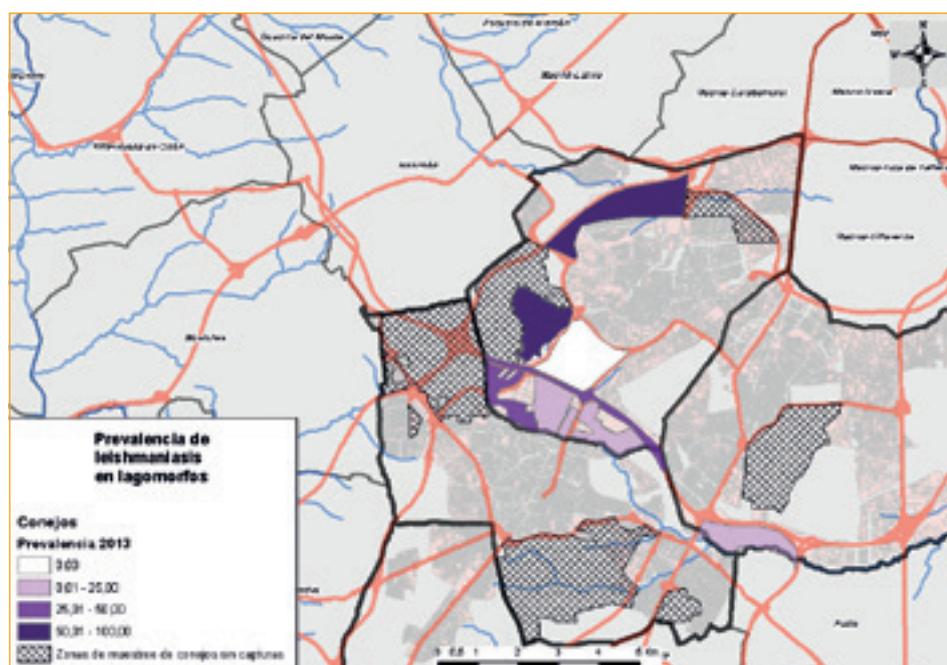


Figura 24. Prevalencia de leishmaniasis en conejos. 2013.

áreas de mayor probabilidad de encontrar casos, densidades altas de flebotomos y reservorios infestados. Se observa cómo en el espacio de Bosque Sur coinciden las tres elipses de distribución (figura 33).

Actuaciones ambientales

Para llevar a cabo la lucha ambiental en este brote se han acometido múltiples actuaciones de diversa índole. Por un lado unas se han dirigido a la reducción de la densidad del vector mediante la aplicación de productos insecticidas en los puntos de cría, otras a la alteración de su hábitat con el fin

de reducir su presencia en las zonas más conflictivas, otras a la lucha contra los reservorios silvestres mediante su captura y con la eliminación de vivares, etc.

Para el control del vector se han llevado a cabo actuaciones medioambientales de modificación del hábitat, tanto de carácter general (desbrozado, eliminación de vegetación, etc.) en áreas previamente definidas como específicas en puntos identificados como lugares de cría y refugio del vector:

Para ello se han identificado y localizado registros, tajeas e imbornales, hábitats muy adecuados para la cría de flebotomos fundamentalmente en los parques periurbanos. En la figura 34 puede obser-

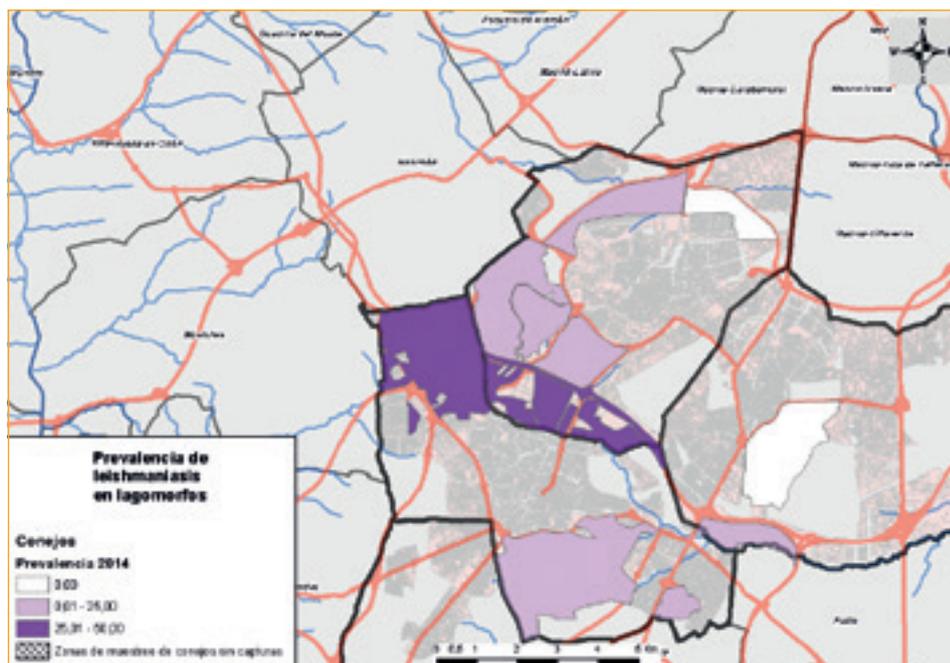


Figura 25. Prevalencia de leishmaniasis en conejos. 2014.

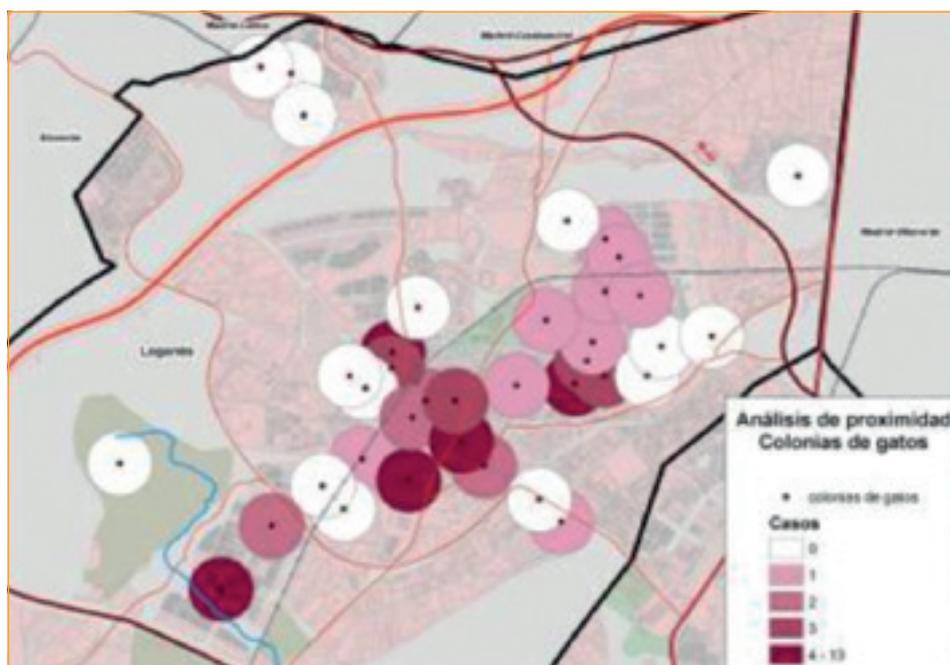


Figura 26. Casos a 300 m. de colonias de gatos. Leganés. Todo el periodo. Todas las colonias.

vare la situación de estos puntos de riesgo, en los parques de Bosque Sur y Polvoranca, sobre los que se actuó de diferente manera mediante limpiezas y desbroces o bien mediante el sellado y cierre en el caso de algunos registros e imbornales.

Asimismo, se ha ejecutado un programa de control antivectorial a través de empresas especializadas que ha incluido la desinsectación periódica de zonas de riesgo y zonas limítrofes: escombreras, vertederos, parques, así como en la red de alcantarillado y de recogida de aguas pluviales.

En la identificación de vivares se ha tenido en cuenta la búsqueda selectiva de ubicaciones para

los que requerían una eliminación prioritaria. Por ejemplo, en el caso de Fuenlabrada, la zona más afectada por el brote, se identificaron los vivares utilizados por los reservorios en las zonas inmediatas al casco urbano y en un área de 500 metros (figura 35).

Junto a ello, es necesario desbrozar el terreno para dificultar la instalación de nuevos vivares a la vez que se alteran posibles hábitats idóneos para la reproducción de los vectores.

A la vista de los resultados obtenidos en la lucha contra el reservorio silvestre (liebres y conejos), mediante su captura y eliminación ha sido la medida más eficaz para su control.

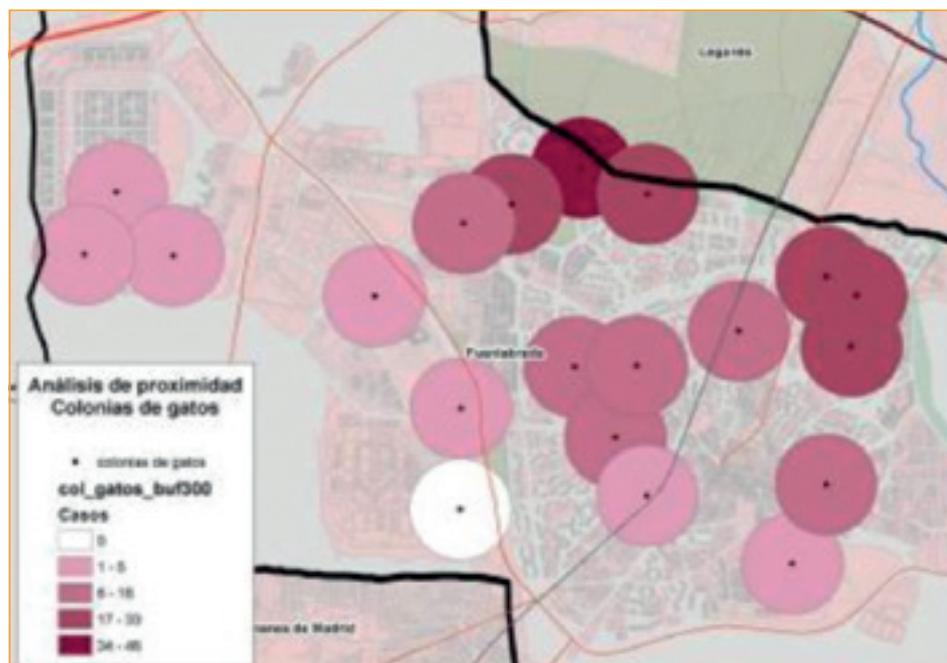


Figura 27. Casos a 300 m. de colonias de gatos. Fuenlabrada. Todo el periodo. Todas las colonias.

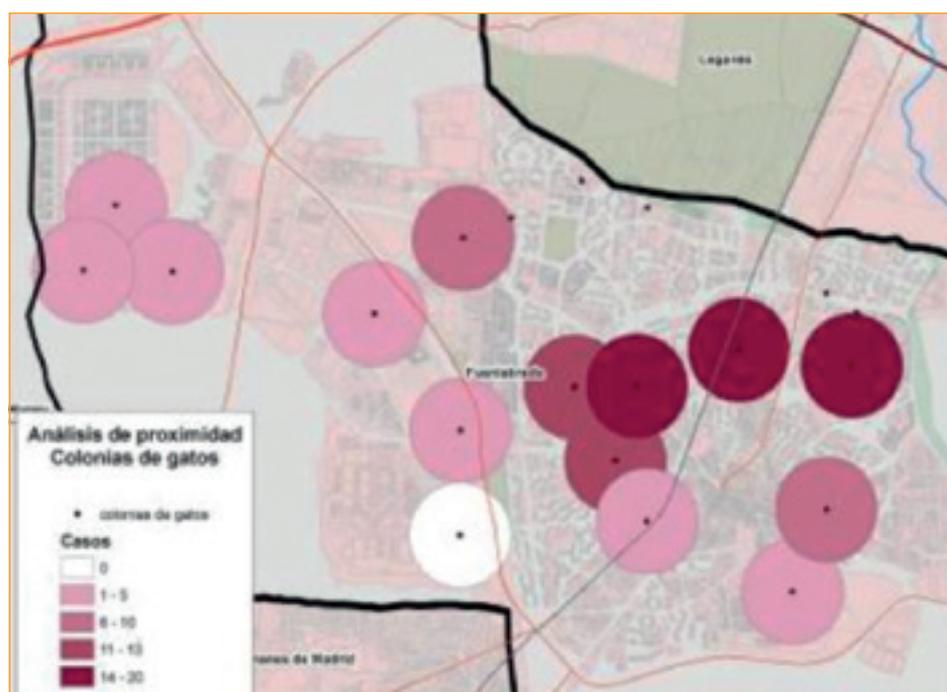


Figura 28. Idem solo las colonias > 300 m de Bosque Sur.

Una de las dificultades a las que se enfrentan las actuaciones ambientales es la de la necesaria coordinación de diferentes agentes. El plan medioambiental, que recae fundamentalmente en las autoridades de Medio Ambiente de la Comunidad de Madrid y de los ayuntamientos de la zona, recoge las medidas que tienen que llevar a cabo todas las instituciones implicadas. El territorio sobre el que se actúa tiene dependencias de actores diversos: Comunidad de Madrid en los parques y en las carreteras de su dependencia, Administración del Estado en las carreteras estatales (M-50, radial) y el Arroyo Culebro,

empresas públicas (ADIF en los trazados ferroviarios), terrenos de propiedad privada, etc., y, por supuesto, los diferentes municipios. A veces esta dependencia es clara, pero no siempre es así, lo que supone una labor de coordinación muy importante (figura 36).

La georreferenciación ha desempeñado un papel fundamental para poder llevar a cabo un correcto seguimiento del plan de control ambiental que se ha ido acometiendo. El seguimiento de los puntos identificados como de riesgo ha sido clave a la hora de priorizar las estrategias de prevención, intervención y control ambiental.

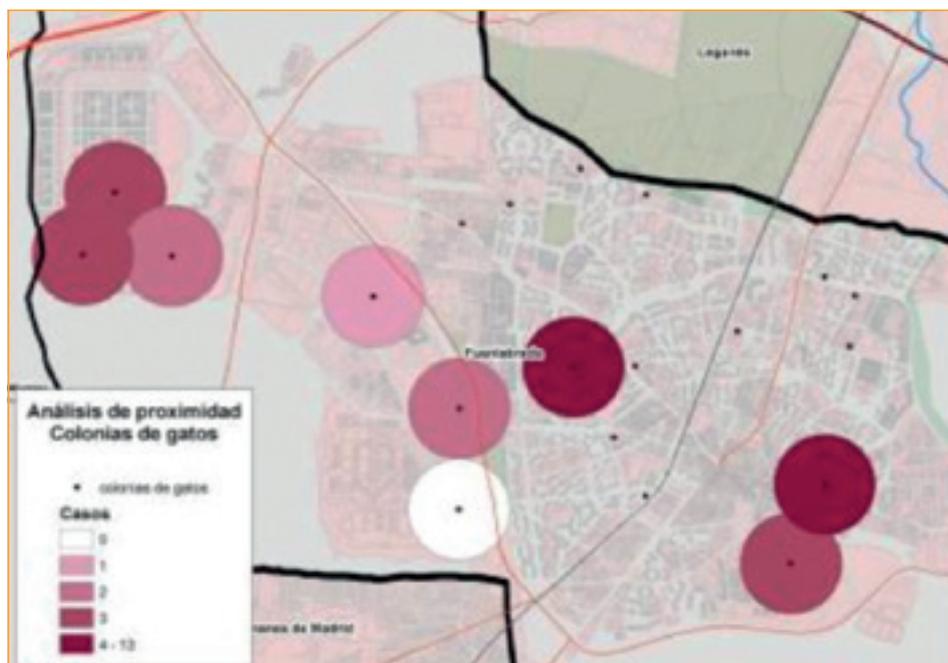


Figura 29. Idem solo las colonias > 500 m de Bosque Sur y > 300 m de cercanías.

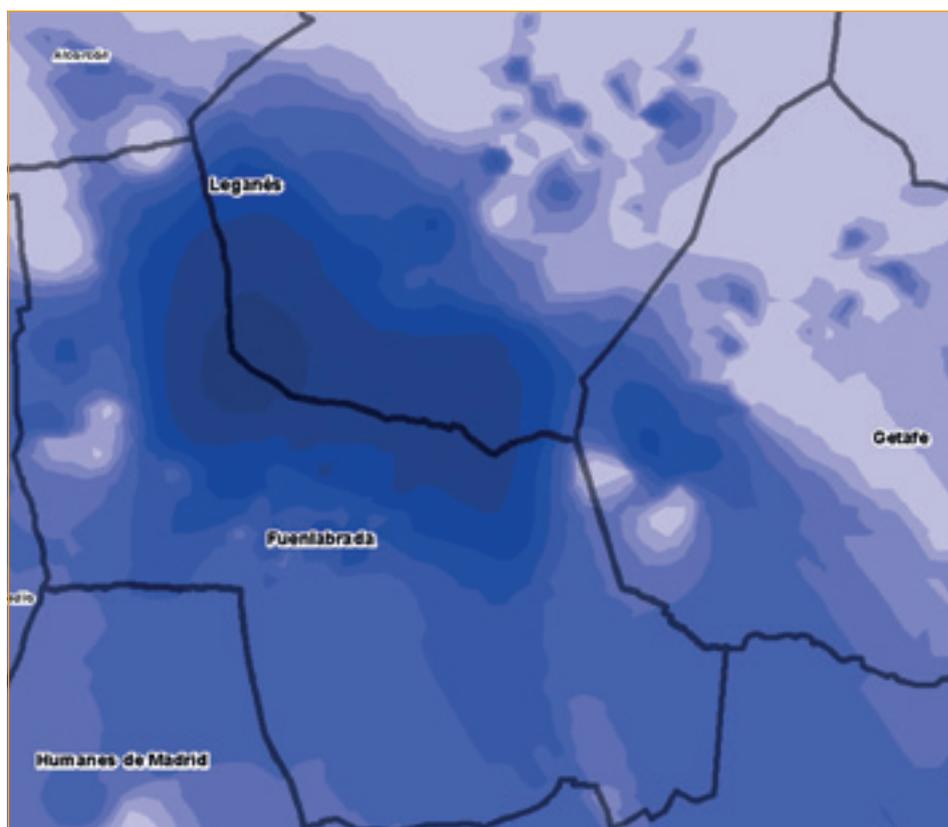


Figura 30. Isocoras de tasas brutas de casos humanos por sección censal.

Conclusiones

Los resultados del análisis espacial pusieron de manifiesto que, durante el período de estudio, la zona con mayor concentración de casos coincidió espacialmente con áreas residenciales periféricas cercanas a espacios verdes con alta densidad de flebotomos, prevalencias elevadas de leishmaniasis

en liebres y conejos y con ausencia de barreras territoriales. A esto se ha añadido la imposibilidad de la actividad cinegética tradicional en estos parques periurbanos y en los entornos de las vías de comunicación, lo que ha contribuido a que existan elevadas poblaciones de lagomorfos.

Por otra parte las infraestructuras viarias, como por ejemplo autopistas de varios carriles, podrían

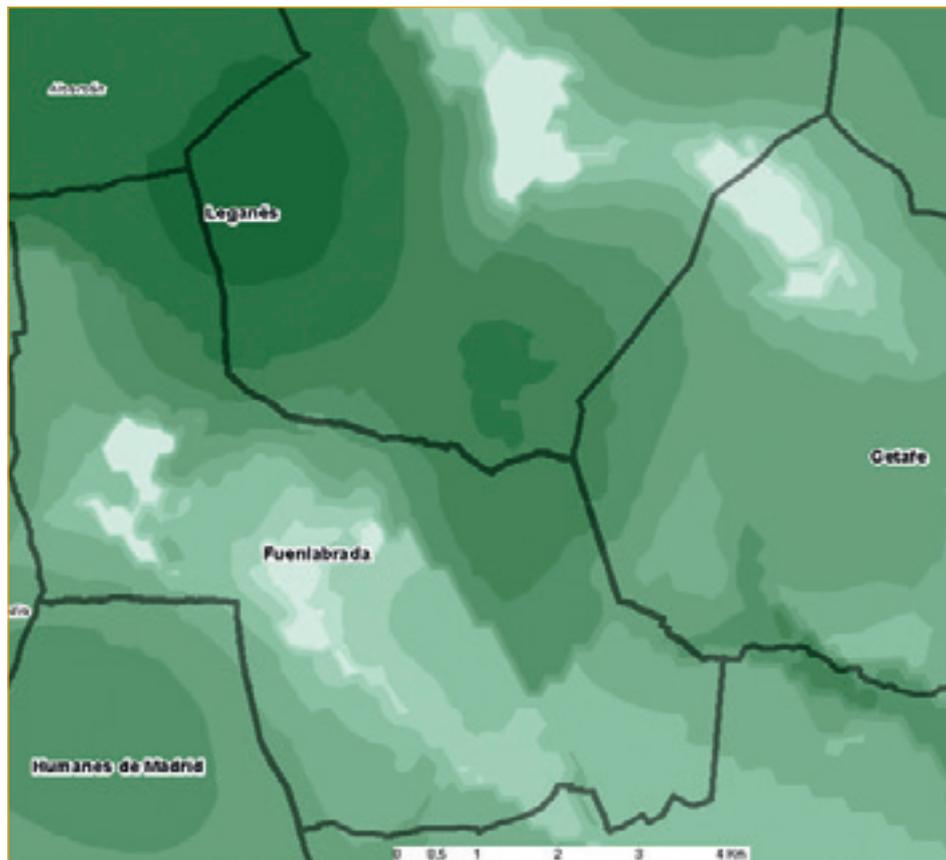


Figura 31. Isocoras de densidades de flebotomos por m².

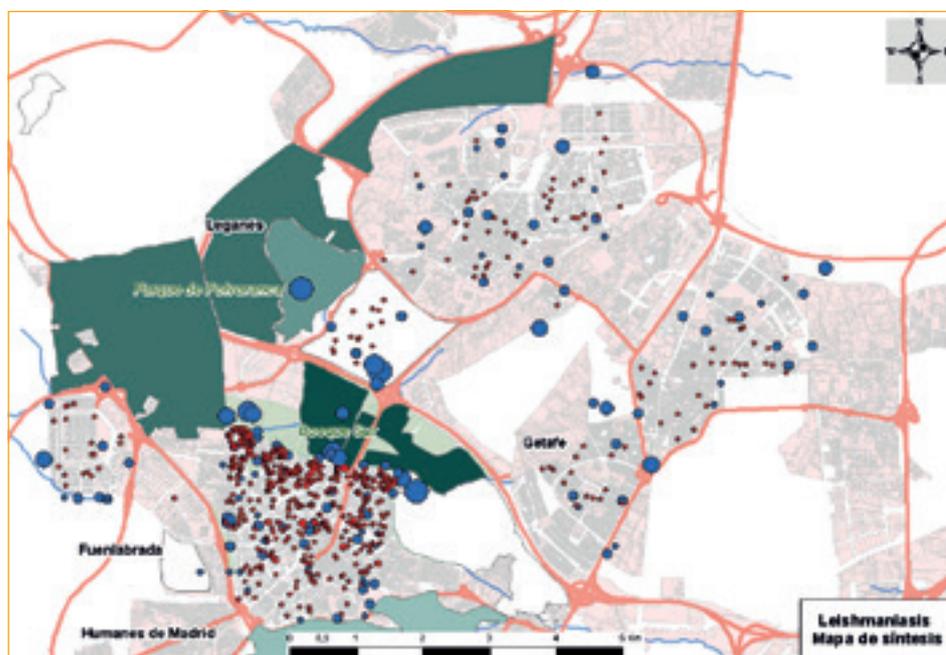


Figura 32. Síntesis de distribución territorial de casos humanos, vector y reservorio.

haber tenido un papel relevante en la distribución espacial del brote como barreras territoriales que aíslan en cierta medida a varios núcleos urbanos de la exposición al parásito o como generadores de un entorno de hábitats idóneo tanto para el vector como para los reservorios.

En brotes de leishmaniasis como el que nos ocu-

pa, el análisis espacial aporta un instrumento metodológico fundamental para conocer la distribución de los casos humanos, los reservorios (silvestres y domésticos) y los vectores. A su vez permite generar hipótesis etiológicas, dirigir y evaluar las actividades de vigilancia y control.

Los sistemas de información geográfica y los mé-



Figura 33. Superposición de las elipses de distribución espacial de casos, vector y reservorio.



Figura 34. Localización y clasificación de registros y otros factores de riesgo en los parque de Bosque Sur (arriba) y Polvoranca (abajo).



Figura 35. Localización de vivares de eliminación prioritaria en Fuenlabrada.

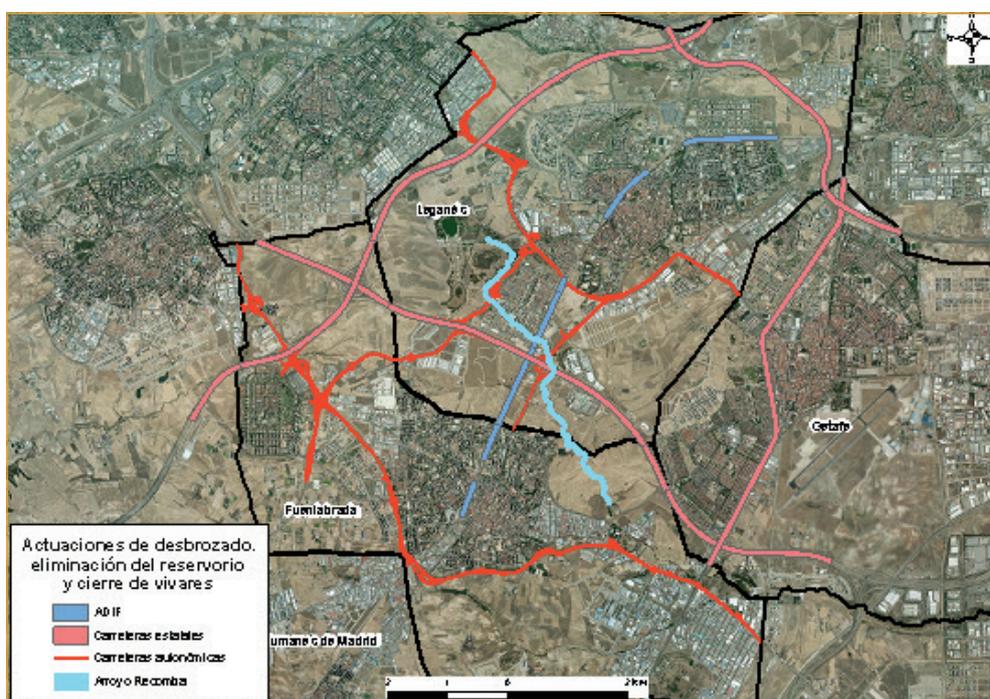


Figura 36. Actuaciones de control de reservorio y vector en vías de comunicación y arroyo de la Recomba.

todos de análisis espacial se ha demostrado que son herramientas de gran utilidad y potencialidad que pueden ayudar a la comprensión de la dinámica de la génesis y evolución de los brotes de enfermedades infecciosas.

El uso de estas herramientas en el campo específico de la sanidad ambiental es patente porque la exposición de la población a factores de riesgo presentes en el ambiente se produce necesaria-

mente en un determinado contexto espacial y temporal.

Agradecimientos

A todos los profesionales de sanidad ambiental y epidemiología de los servicios territoriales de salud pública de las Áreas IX y X, y de los servicios centrales de la Subdirecciones Generales de Sanidad Am-

biental y Epidemiología de la Dirección General de Salud Pública de la Comunidad de Madrid.

A la Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid, que junto con los ayuntamientos implicados: Fuenlabrada, Leganés, Getafe y Humanes de Madrid, han llevado a cabo la coordinación de las actuaciones ambientales en este brote.

Al instituto de Salud Carlos III (Unidad de Leishmaniasis y Enfermedad de Chagas y Unidad de Entomología Médica), Facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid (Unidad de Entomología del Departamento de Zoología Antropología Física) y el Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid, por su apoyo científico.

BIBLIOGRAFÍA

¹Arce A et ál. Reemergence of leishmaniasis in Spain: community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill.* 2013;18(30):pii=20546.

²Moreno Jiménez A. Modelización cartográfica de densidades mediante estimadores Kernel. *Treballs de la Societat Catalana de Geografia*, 1991:30.

³Aránguez Ruiz E et ál. Análisis espacial de un brote de leishmaniasis en el sur del Área metropolitana de la

Comunidad de Madrid. 2009-2013. *Rev salud ambient.* 2014;14(1):39-53.

⁴Instituto de estadística. NOME CALLES. Nomenclátor oficial y callejero. Disponible en: <http://www.madrid.org/nomecalles/Inicio.icm>

⁵Werneck GL, Costa CHN, Walker AM, David JR, Wand M, Maguire JH. The Urban Spread of Visceral Leishmaniasis: Clues from Spatial Analysis. *Epidemiology* 2002;13:364-7

LA INTERVENCIÓN MUNICIPAL

M^a Juana Pablos¹, Gregorio Pintor² y M^a Elisa Marco³

¹Departamento de Medio Ambiente. Ayuntamiento de Getafe. ²Departamento de Medio Ambiente. Ayuntamiento de Leganés. ³Concejalía de Sanidad. Ayuntamiento de Fuenlabrada.

Medio físico y humano

Introducción y objetivo

El objetivo de este capítulo es aportar la experiencia, desde el ámbito municipal, en la gestión del brote de leishmaniasis en el hombre detectado en tres municipios del sur metropolitano de la Comunidad de Madrid, Getafe, Leganés y Fuenlabrada, desde febrero de 2011, momento en el que se comunica oficialmente la existencia de una "concentración de casos".

Los primeros casos de interés epidemiológico son detectados en Fuenlabrada y Leganés por el Servicio de Salud del Área 9. Si bien era conocida la presencia de casos de leishmaniasis en la población canina de la Comunidad de Madrid, fue sorprendente el crecimiento de los casos de la enfermedad en el hombre en estos municipios, desconociéndose una situación similar con anterioridad. Ante estos hechos se inician reuniones con las administraciones e instituciones competentes en el ámbito de la salud y el medio ambiente, contándose con la participación de expertos de las Facultades de Ciencias Biológicas y Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid y del Centro de Investigación Carlos III. Fruto de las reuniones, investigaciones y demás trabajos de los equipos técnicos participantes, se diseñaron actuaciones dirigidas al control del reservorio conocido en aquel momento, así como de otros posibles reservorios, y vectores de la enfermedad, una vez que los resultados en perros parecían descartar un único reservorio.

Los ayuntamientos adquirieron la responsabilidad de ejecutar las actuaciones definidas, fundamentalmente en el control del vector y reservorio,

mediante programas concretos de desinsectación y aplicación de medidas ambientales relacionadas con la limpieza de las áreas susceptibles de alojar y desarrollar flebotomos. Las actuaciones municipales implicaron a diferentes departamentos y delegaciones competentes en materia de medio ambiente y mantenimiento de la ciudad (limpieza viaria, tratamiento de residuos urbanos, alcantarillado, control de plagas y parques y jardines). Por otra parte, los ayuntamientos coordinaron actuaciones con distintos estamentos públicos supramunicipales como ADIF, demarcaciones de carreteras y Base Aérea de Getafe. Por último, a fin de conseguir la máxima eficacia, fueron requeridos los propietarios de solares y áreas verdes para que se realizara un mantenimiento riguroso, incluyendo limpieza y desbroce, de todas las áreas privadas susceptibles de constituir un ecosistema de desarrollo de vectores.

Descripción del territorio

La leishmaniasis es una enfermedad con un ciclo de transmisión complejo que implica un vector y distintos reservorios. Para el desarrollo de un brote como el que se describe en este documento se requiere la confluencia de distintos factores, entre otros un medio ambiente que favorezca la presencia y desarrollo del vector y de los reservorios. Por esta razón es muy importante describir el territorio y conocer la transformación que en él se produce en los últimos años y que, según nuestra tesis, constituye el punto de inicio del problema.

La orografía del territorio de los municipios de Getafe, Leganés y Fuenlabrada es suavemente ondulada, con algún cerro aislado como el Cerro de la Cabeza y Cerro de Los Ángeles. El entorno fluvial

está constituido por el río Manzanares y su afluente más importante en la zona, el Arroyo Culebro. El 70% del territorio de estos municipios, está urbanizado, no obstante, aloja importantes áreas protegidas como el parque Sureste en torno a los cursos bajos de los ríos Manzanares y Jarama y parque de la Alhóndiga en Getafe, parque Polvoranca y Bosque Sur en Leganés, Fuenlabrada y Alcorcón.

Los terrenos pertenecientes a los municipios afectados eran de tipo agrícola* con cultivos cerealísticos de secano y huerta, hasta bien entrados los años 90 del pasado siglo y aún quedan pequeñas parcelas con estos usos. A medida que la zona se desarrolló los usos del suelo circundantes cambiaron, pasando a ser residenciales, industriales, de

infraestructuras y servicios, dejando un espacio con alta y creciente densidad de población y con síntomas de degradación: presencia de vertidos sólidos y líquidos, importantes impactos paisajísticos, alteración del cauce de los arroyos, aislamiento y fragmentación del espacio, carencia de funcionalidad (figuras 1 y 2).

El **parque Polvoranca** se localiza en el municipio de Leganés y tiene una extensión de 150 Ha. El origen del nombre fue la aldea de Polvoranca, surgida en el siglo XIII, de la que se conservan las ruinas de la iglesia de San Pedro. Sus habitantes fueron ganaderos y agricultores y abandonaron el lugar en el siglo XV al parecer por ser considerado un lugar insalubre por problemas de enfermedades y mosquitos de las

Figura 1. *La transformación del medio.*
Fuenlabrada hacia 1960 rodeada de campos de cultivo.



Figura 2. *La transformación del medio.*
Campos de cultivo que se transformarán en el Parque Forestal Urbano de Bosquesur. Vista desde el barrio de La Avanzada, Fuenlabrada. Al fondo Leganés. Año 2.000.



lagunas cercanas. El diseño del parque, tal y como es actualmente, data de 1986 y surgió en torno al arroyo de la Recomba, las lagunas de Mari Pascuala y de los Sisones. El arroyo que une las lagunas de Mari Pascuala y Recomba serpentea en un tramo importante junto a la M-407 y a 200 m de viviendas. Es importante reseñar la vegetación abundante en las márgenes de dicho arroyo. Se trata pues de un ecosistema de humedales y pequeños cauces superficiales que, ya fuera del parque, dan origen al arroyo Culebro. El uso del parque es recreativo, deportivo y educativo, y dispone de un Centro de Educación Ambiental. Podemos considerarlo como la primera gran actuación que la Comunidad de Madrid realiza en el territorio de estudio.

Bosque Sur. La idea de la creación de un espacio verde de tipo forestal en los municipios del sur del área metropolitana de Madrid surgió a finales de los noventa. La empresa pública Arpegio, propietaria de parte de los terrenos de la zona, realizó un proyecto para crear lo que se llamó Parque Lineal del Arroyo Culebro. Se trataba de hacer un corredor verde natural a lo largo del cauce del Arroyo Culebro (figura 3).

Inicialmente se ejecutó una pequeña superficie del municipio de Getafe, quedando pospuesto el proyecto hasta el año 2003 en el que se desarrolló un nuevo proyecto denominado Parque Forestal del Sur, al que se incorporaban terrenos expropiados para la construcción de la autovía M-50. Con este nuevo proyecto se pretendía "dotar a los municipios del sur de la Comunidad de Madrid de un corredor verde entre los municipios de Leganés, Fuenlabrada, Getafe y Pinto, que regenerase importantes zonas de terreno entonces eriales, escombreras o cultivos abandonados y, que al tiempo, diera respuesta

a las necesidades de recreo de los habitantes de estas poblaciones, completando la oferta de otras zonas verdes ya consolidadas como el cercano parque Polvoranca (Leganés)".*

Finalmente, desde el año 2005, el proyecto pasó a llamarse Bosque Sur, y en este año se iniciaron los trabajos de desarrollo de las dos primeras fases dentro del municipio de Leganés. El proyecto se incluye dentro del Plan de Repoblaciones de la Comunidad de Madrid 2006-2010 en el apartado Parques Forestales Periurbanos. Con una superficie de 350 Ha constituye el gran parque periurbano de la zona y se caracteriza porque está constituido por 8 zonas discontinuas y diferenciadas que pertenecen a los municipios de Pinto, Getafe, Leganés y Fuenlabrada. La recuperación de este territorio exigió la ejecución de actuaciones de limpieza y forestación, así como la dotación de infraestructuras de ocio y deporte. La parte norte del parque está delimitada por la M-50 y está recorrido por la M-406, M-407 y la línea férrea Madrid-Badajoz. El suelo es arcilloso y presenta zonas de encharcamiento en invierno (figura 4).

Si bien la inauguración del parque fue en 2008, los trabajos de forestación se iniciaron en 2006 - 2007 con especies del género *Quercus* y otras especies autóctonas que aún presentan un porte pequeño. De la fauna asociada destacamos por su importancia el desarrollo masivo de conejos y liebres. De las 8 zonas que constituyen el proyecto de Bosque Sur (350 Ha), se han ejecutado 4, que constituyen nuestra área diana. Se han realizado trabajos de movimiento de tierras creando taludes, lagunas,

*Tecnoma 2004



Figura 3. El cambio del territorio.

Fuenlabrada en primer plano. A continuación primeros movimientos de tierra para la creación del Bosque Forestal Urbano de Bosque Sur. Al fondo la Autovía M-50, Leganés y Madrid.



Figura 4. *El cambio del territorio.*

Terrenos del futuro Parque Forestal Urbano de Bosque Sur. Primeros movimientos de tierra. Arriba, a la izquierda, Fuenlabrada. A la derecha Autovía M-50.

riegos, roturando el suelo, haciendo plantaciones de arbustos y árboles, sendas peatonales, áreas infantiles, aparcamientos, etc. La zona se transforma en un área de esparcimiento (figura 5).

Los vecinos de Fuenlabrada son los que usan principalmente Bosque Sur. Los usuarios de Polvoranca pertenecen en un 40% al municipio de Alcorcón, 35% a Leganés, 15% a Fuenlabrada y 10% a otros lugares.

Características socioeconómicas

El proceso de densificación demográfica de la periferia sur madrileña arrancó a finales de la década de los 60 del pasado siglo XX. A partir de 1965 el área metropolitana comenzó a absorber la mayor parte de las migraciones internas que se dirigían a la región de Madrid y casi la totalidad del movimiento demográfico de expulsión de las familias jóvenes de la capital. Unos y otros eligieron el área metropo-



Figura 5. *Primeras plantaciones en el Parque Forestal Urbano de Bosque Sur.*

En la esquina inferior izquierda obras del Centro Comercial Arroyosur. Al fondo Fuenlabrada. Los primeros edificios marca el límite del término municipal. En esta zona Bosque Sur queda enclavado en el término municipal de Leganés.

litana sur como lugar de residencia por existir una importante oferta de vivienda barata. Los crecimientos demográficos, muy superiores en esos años al conjunto de la Comunidad de Madrid, dieron lugar a grandes ciudades-dormitorio que transformaron profundamente el paisaje rural existente hasta ese momento, en el sur de la región.

En definitiva, a lo largo de los treinta años que van desde 1975 a 2005 el área sur metropolitana ha incrementado la población en un 103,9%, un crecimiento demográfico vertiginoso sustentado en la dinámica residencial que ha inducido movimientos de población centrífugos (centro-periferia) y que ha conferido a la población residente en la zona un alto grado de juventud en comparación con el conjunto de la Comunidad de Madrid.

El área afectada abarca municipios que acogen a una población en torno a los 550.000 habitantes en un territorio de 16.116 Ha. La densidad media es de 3.416 habitantes por Km² distribuidos en áreas urbanas residenciales muy compactas. Fueron municipios con vocación agrícola hasta mediados del siglo XX, que evolucionaron como polos de atracción industrial debido a los movimientos migratorios internos del país en las décadas de los 60 y 70. Si bien durante las últimas décadas del siglo pasado los municipios del sur metropolitano eran fundamentalmente industriales, actualmente es el sector servicios el predominante, como sucede en el resto de la comunidad autónoma.

Elementos estructurales

El área territorial donde están ubicados los municipios afectados, a 15 km del centro de la ciudad de Madrid, cuenta con un amplio sistema de comunicaciones: carreteras estatales (A-42 y A-4), autonómicas (M-50, M-45, M-406, M-407 y M-506) y vías férreas (C-3, C-4, C-5 y AVE). El uso predominante del suelo de los municipios es el residencial e industrial y dispone de una dotación hospitalaria, deportiva y docente amplia: dos universidades, tres hospitales y diversos centros deportivos. El área aloja tres estaciones depuradoras de aguas residuales asociadas a los cauces del Arroyo Culebro y el río Manzanares, que da cobertura, así mismo, a otros municipios colindantes.

Cronología del proceso

Primera fase: gestión de febrero a mayo de 2011

Es importante reseñar que, antes de iniciarse el brote, los técnicos municipales de Leganés y Fuenlabrada formaban parte de un grupo no formal que participaba en diversos programas de vigilancia sanitaria, leishmaniasis entre ellos, desde los centros municipales de acogida de animales abandonados. Se mantenían reuniones periódicas de técnicos municipales con Técnicos de Salud Pública de la Comu-

nidad de Madrid de diferentes Áreas. Esta situación favoreció la circulación de información y el conocimiento profundo del ciclo del vector, experiencia en la colocación de trampas para capturar e identificar su hábitat y realización de programas de detección de leishmaniasis en perros susceptibles de adopción.

Estudios realizados desde los años 80 del pasado siglo, recogen la presencia de distintas especies de flebotomos en la Comunidad de Madrid y en concreto en la zona afectada por el presente brote. Tres de ellas constituyen el porcentaje más importante: *S. minuta*, *P. ariasi* y *P. perniciosus*. No obstante, los datos con los que se contaba de densidades de población de flebotomos de la zona se encontraban dentro de la media de la Comunidad de Madrid

Lógicamente antes de emprender medidas para controlar lo que en un principio se denominó "agrupación de casos", había que recopilar información y organizarla para que llegase a los técnicos cualificados y facilitar la toma de decisiones. Paralelamente se realizaron algunas importantes actuaciones para diseñar el plan de control de flebotomos, aún inactivos, y reservorio. Este periodo, está bien definido y abarca desde febrero a finales de mayo de 2011.

El día 7 de febrero se informó a los ayuntamientos implicados que había una agrupación de casos de leishmaniasis en humanos. Tras esta comunicación se recabó información de los años anteriores y se constató que había un ligero repunte de los casos en el año 2010 en el programa de detección de leishmania en perros vagabundos, pero que en ningún caso explicaba este aumento en humanos. El Sistema de Vigilancia de Flebotomos durante los últimos 4 años mostró una presencia regular de estos dípteros con una densidad baja media, de 3 ejemplares/m². Inicialmente se centró la atención en los perros como reservorios tradicionales del parásito en el área mediterránea. La literatura científica revisada establecía una relación entre el incremento en el número de casos en humanos y en perros.

El día 14 de febrero los responsables del Área 9 convocaron a los responsables de las Delegaciones de Salud de dichos ayuntamientos con el fin de abordar este problema. En esta reunión técnicos del Área de Salud Pública aportaron datos de localización de las residencias de las personas afectadas, que se agrupaban en el caso de Fuenlabrada en la zona norte del casco urbano, lindando con el término municipal de Leganés, zona ocupada por Bosque Sur. En el caso de Leganés los casos se agrupaban en la zona sur del casco urbano, concretamente en el barrio residencial del parque Polvoranca. **Se impone como hipótesis de trabajo que la zona más probable del foco era Bosque Sur y el parque Polvoranca.** Se programa una visita a la zona.

Los días 21 y 22 de febrero se realizaron visitas a los parques de Bosque Sur y Polvoranca, con objeto de recabar información y preparar una visita de

inspección con todos los técnicos de las administraciones implicadas y expertos, tanto en *Leishmania* como en flebotomos. Se realizó un informe que se entregó tanto a los responsables políticos municipales como a los Técnicos de Salud de la Comunidad de Madrid. En dicho informe se confirmaba la presencia masiva de flebotomos, que fueron recogidos en las lámparas de los Centros de Interpretación Ambiental de ambos parques, la gran presencia de liebres, conejos y 2 colonias de gatos; también se hace referencia a los movimientos de tierras realizados al modificar el trazado de la carretera M-407 y al terreno arcilloso que hace que en época de lluvias este quede encharcado durante mucho tiempo.

El día 12 de marzo se realiza una reunión en el Centro de Protección de Animales de Leganés entre técnicos municipales y el Área de Zoonosis y Riesgos Ambientales de la Comunidad de Madrid para diseñar el plan de monitorización de flebotomos que tendrá lugar desde mayo a octubre de 2011.

El día 25 de marzo se realizó una visita técnica a los parques de Bosque Sur y Polvoranca, a la que asistieron todos los agentes implicados hasta este momento:

- Técnicos municipales de Fuenlabrada y Leganés, que organizaron dicha visita.
- Responsable y técnicos del Área de Riesgos Ambientales y Zoonosis de la Comunidad de Madrid.
- Técnicos del Servicio de Salud Pública del Área 9 Sanitaria.
- Profesores del Departamento de Entomología de la Facultad de Ciencias Biológicas de Universidad Complutense de Madrid.
- Técnicos de mantenimiento de los parques afectados.

Se hicieron varias observaciones reseñables:

1. Se determinaron los lugares para hacer muestreos de flebotomos.
2. Imposibilidad de los Servicios Municipales de Salud de establecer una vía de comunicación rápida con los propietarios de los perros, ya que únicamente hay censados 1.600 en Leganés y 3.600 en Fuenlabrada, y según la base de datos del Colegio de Veterinarios hay 18.315 perros en Leganes y 23.000 en Fuenlabrada.
3. Se propone la posibilidad de realizar un *screening* en los perros, aprovechando la campaña de vacunación antirrábica anual.
4. Rechazar la colaboración de las protectoras de gatos para la captura de animales en las colonias que ellas abastecen. En ese momento se observó la presencia de numerosas liebres y conejos, no obstante, no se consideró relevante.

El día 27 de abril se realiza una sesión formativa de extracción de médula ósea en el Centro de Protección de Animales de Fuenlabrada. A ella asisten los veterinarios municipales encargados de realizar dichas extracciones.

En la segunda quincena de mayo se realiza la Campaña Anual de Vacunación Antirrábica. Previamente se informó a los vecinos de la posibilidad de participar en el *screening*. Se tomaron 510 muestras y a los perros que dieron positivo en el test se les extrajo posteriormente médula ósea para su estudio. Los resultados sorprendentes de este estudio supusieron el replanteamiento del perro como único reservorio y abrió el campo de visión para empezar a estudiar otros mamíferos que pudieran estar actuando como reservorios: primero liebres y posteriormente conejos.

Actuaciones

Actuaciones realizadas desde febrero de 2011 a marzo de 2014

El conocimiento del territorio, los resultados de las encuestas epidemiológicas realizadas a los afectados y la georreferenciación de los casos ayudaron a determinar con precisión la zona diana en la que concentrar las actuaciones, que se circunscribió a los parques Polvoranca y Forestal Urbano de Bosque Sur. Esta circunstancia vino a corroborar lo manifestado por los técnicos municipales desde las primeras reuniones de coordinación. Desde febrero de 2011 se diseñaron una serie de actuaciones que han constituido la base para intentar controlar el presente brote y que, durante los años 2012, 2013 y en la actualidad, se han ido mejorando.

Puesto que en otros capítulos de esta publicación se describirán las actuaciones puestas en marcha, daremos mayor énfasis a las dificultades que, desde los municipios, hemos encontrado en la ejecución de estas medidas.

Con las **actuaciones medioambientales** diseñadas se pretendió eliminar puntos que sirven de refugio al flebotomo y reducir su población, limitando también sus fuentes de alimentación. A estas medidas se unen los tratamientos biocidas que se aplicaron y un sistema de vigilancia mediante trampas de aceite de ricino y trampas de luz para valorar la eficacia de las actuaciones y obtener información relevante de los reservorios de la *Leishmania*.

Entre las actuaciones medioambientales realizadas se incluyeron: desbroces de praderas, márgenes de arroyos, urbanizaciones y carreteras (M-50, M-406, M-407 y M-409), vaciado y limpieza de estanques, poda y aclareo de arbustos, limpieza y desbroce de solares en el casco urbano y zonas periurbanas, eliminación de escombreras, zonas de compostaje y de acopio de poda, limpieza de la red de alcantarillado y rejillas de recogida de agua de lluvia.

Incrementar los recursos en los servicios que ya existían, aunque significó un esfuerzo importante, no fue lo más difícil. Resultó más complicado, no sólo por el coste económico, eliminar escombreras y vertederos incontrolados. Se produjo un efecto llamada que hizo que en una misma campaña (de abril a octubre) en algunos de estos puntos hubiera que actuar hasta en cuatro ocasiones. A esto se une la importante extensión de algunas de estas escombreras y vertederos y el importante número que, durante el año

2012, se identificaron en un radio de 3 km, tomando como centro el Parque Forestal Urbano de Bosque Sur. Ante la dimensión de las labores a realizar, se hizo necesario establecer una zona prioritaria de actuación que quedó circunscrita a 500 m alrededor del límite de los cascos urbanos (figuras 6 y 7).

Durante el año 2013, además de continuar con las actuaciones anteriores, también se realizaron labores de sellado de grietas de muros de instalaciones existentes en las proximidades del área diana y de



Figura 6. Actuaciones medioambientales.

Se centraron los esfuerzos de eliminación de escombreras en un perímetro de 500 m alrededor de los cascos urbanos.



Figura 7. Actuaciones medioambientales.

Eliminación de escombreras alrededor de los cascos urbanos.

eliminación de madrigueras de conejos, tanto activas como inactivas, en este área y en las zonas verdes del casco urbano en las que se detectó su presencia.

La destrucción y/o sellado de las madrigueras de conejos también resulta especialmente difícil. En primer lugar, por lo inaccesible de las zonas en que se ubican los vivares de conejos (zonas de taludes con importante inclinación y zonas con terrenos sueltos y huecos) y en segundo lugar porque una vez cerradas, las vuelven a abrir con mucha facilidad. También resultó especialmente complicado conseguir que los propietarios de parcelas o solares sin construir realizaran un adecuado mantenimiento de las mismas.

En primer lugar, porque los propietarios de estas parcelas han desaparecido (empresas constructoras o industrias que han quebrado con la crisis), en segundo lugar por lo garantista del procedimiento administrativo, que se prolonga excesivamente y en tercer lugar por el coste económico que supone para los ayuntamientos acometer estas labores de forma subsidiaria (la gestión correcta de los distintos tipos de residuos detectados encarece sustancialmente las actuaciones). Como positivo a este trabajo podemos señalar que los municipios implicados han realizado un censo de solares en los cascos urbanos y zonas periurbanas (figuras 8, 9 y 10).

Figura 8. Actuaciones medioambientales.

Intervenciones en solares privados, dentro de los cascos urbanos. Se requiere a los propietarios el desbroce y limpieza. En ocasiones los ayuntamientos deben, subsidiariamente, realizar la actuación tras la tramitación del correspondiente expediente.



Figura 9. Actuaciones medioambientales.

Sellado de grietas en parque Norte, Fuenlabrada. Con la información obtenida en las trampas de impacto, se diseñan actuaciones puntuales para evitar focos de desarrollo de flebotomos.



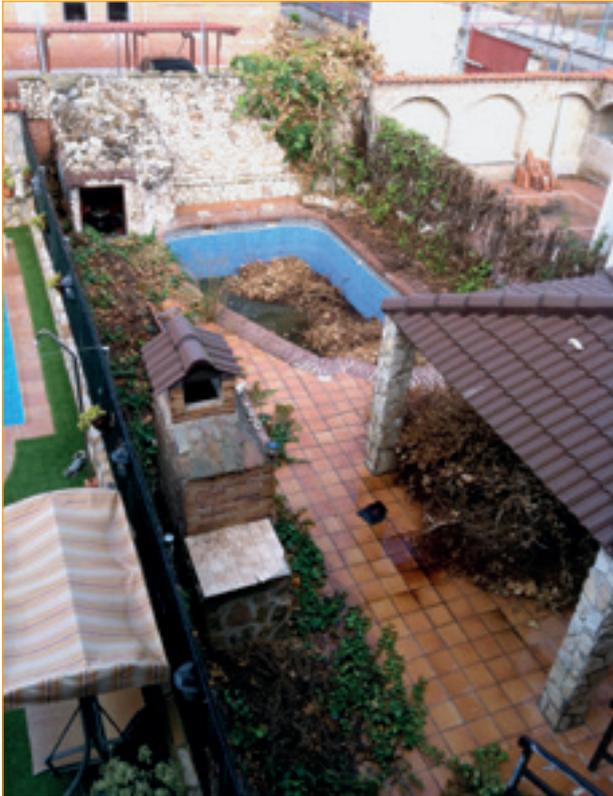


Figura 10. Actuaciones medioambientales.
Acopio de restos vegetales en vivienda privada (C/
Torrente. Fuenlabrada).

Fue necesario hacer un trabajo directo con los jardineros de las comunidades de propietarios informándoles de la necesidad de eliminar las composteras y los cúmulos de restos de poda y restos vegetales. Se contactó con las asociaciones de agricultores de la zona, solicitando una adecuada labor de las

parcelas cultivadas próximas al Parque Forestal Urbano de Bosque Sur y a los cascos urbanos así como actuaciones de control de crecimiento de vegetación en parcelas que se mantienen en barbecho. Se han solicitado actuaciones específicas en centros educativos con importantes zonas ajardinadas interiores y con escaso mantenimiento de estas zonas (figuras 11 y 12).

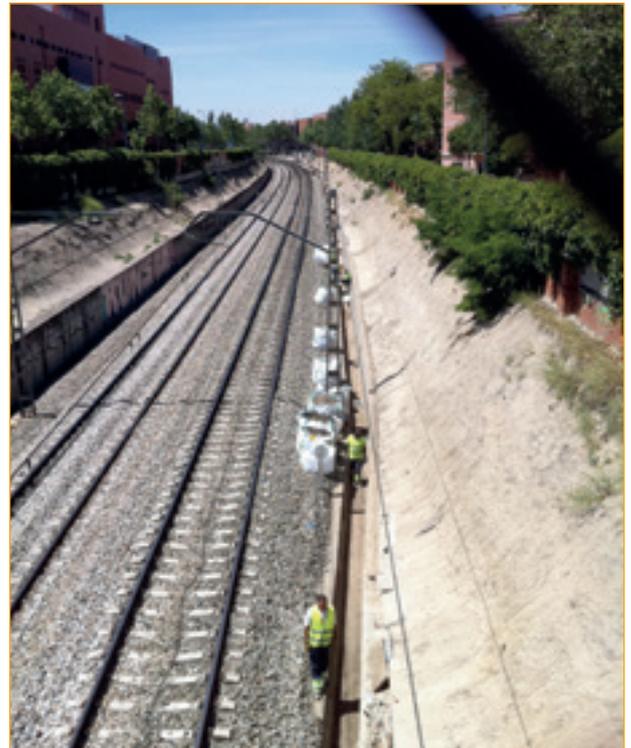


Figura 11. Actuaciones medioambientales.
Limpieza en vías del tren de cercanías en Leganés. Línea C-5.



Figura 12. Actuaciones medioambientales.
Intensificación en el desbroce de taludes, márgenes de carreteras, zonas limítrofes entre el casco urbano y el parque Forestal Urbano de Bosque Sur, parques y jardines. Exteriores del parque El Olivar, Fuenlabrada.

Con lo expuesto queda clara la implicación de distintas áreas de la estructura municipal: Concejalías de Salud, Medio Ambiente, Urbanismo, Policía Local. Es importante señalar esta implicación puesto que también se hace necesario una labor de información y concienciación en la organización interna de los ayuntamientos.

Complicación añadida fue el hecho de delimitar las competencias de actuación en el territorio diana. El Parque Forestal Urbano de Bosque Sur es mantenido por empresas privadas contratadas por la Consejería de Medio Ambiente, Administración Local y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid y se ubica, en la zona problema, dentro del término municipal de Leganés. No obstante, queda más cercano al casco urbano de Fuenlabrada, con viviendas en altura y una alta concentración de población expuesta. A esta circunstancia se une la presencia de pequeñas parcelas de uso agrícola próximas a las viviendas y al Parque Forestal Urbano de Bosque Sur.

Junto a estas medidas de modificación del medio, se plantearon medidas de **control vectorial en la zona diana** y en los parques y espacios verdes y con arbolado existentes en el interior de las ciudades. Así durante 2011 se realizaron tratamientos ambientales mediante nebulización en las zonas periurbanas (márgenes de arroyos y lagunas) y grandes parques del interior de las ciudades. Por pulverización se realizaron tratamientos en muros y tapias de instalaciones en zonas periurbanas, en rejillas de recogida de pluviales y pozos de alcantarillado. En la red de alcantarillado de los barrios de Fuenlabrada más cercanos a la zona diana, los tratamientos se realizaron mediante termonebulización. En el caso de Fuenlabrada se consideró, inicialmente, como instalaciones de cierto riesgo los sótanos sanitarios de los bloques de viviendas de los barrios cercanos a la zona diana. *A posteriori* se comprobó que estas instalaciones, en la mayoría de los casos habían sido reformadas o lo estaban siendo. No obstante, se mantiene vigilancia en sótanos sanitarios de instalaciones públicas cercanas a la zona diana (figuras 13 y 14).

Los productos biocidas utilizados por las empresas de control de plagas de los ayuntamientos fueron tanto adulticidas como larvicidas. Los tratamientos se plantearon coincidiendo con los picos de presencia de flebotomos, durante los meses de mayo a junio y posteriormente de septiembre a octubre. Dado el comportamiento del vector, los tratamientos se realizaban principalmente al atardecer y primeras horas de la noche.

Resultaba extremadamente complejo acometer estos tratamientos, primero por motivos de seguridad de los trabajadores de las empresas de control de plagas (trabajos en horario nocturno y en áreas de difícil acceso) y por motivos de seguridad de la población que durante ese horario, y más siendo

verano, ocupaba masivamente las zonas a tratar. Se hizo necesario cerrar al público los parques, comunicando con antelación, mediante carteles informativos y páginas web, la realización de los tratamientos y contar con la colaboración de policía local para evacuar los espacios.

Desde el primer momento se establecieron dudas sobre la realización de tratamientos biocidas ambientales y, finalmente, la eficacia de estos tratamientos no fue la esperada. La densidad de los flebotomos se reducía durante un escaso periodo de tiempo, produciendo un "efecto rebote" en algunos casos (viviendas cercanas a la zona diana, a las 24 horas de realizado el tratamiento ambiental, referían presencia abundante de mosquitos). La recuperación de las poblaciones era muy rápida, no consiguiendo el efecto deseado.

En el año 2012 se cambió la estrategia de los tratamientos. No fueron tan indiscriminados y se concentraron en aquellos puntos que la red de monitoreo había identificado como problemáticos. Se realizaron tratamientos localizados diariamente durante una semana y posteriormente una vez a la semana durante las dos épocas de mayor concentración de flebotomos.

En el año 2013, además, se ensayaron distintos productos para comprobar su eficacia y se utilizaron productos de mayor residualidad en tapias, muros y pozos de alcantarillado. Este cambio de estrategia facilitó el trabajo a las empresas de control de plagas, puesto que ya no fue necesario realizar algunos de los tratamientos en horario nocturno. Fue necesario extremar las precauciones en las aplicaciones cercanas a zonas de viviendas, centros educativos y polideportivos, seleccionando horarios de no uso de las instalaciones y mínima presencia de población en el exterior. Dado que existen casos de vecinos con especial sensibilidad a productos químicos, ha sido necesario localizar el domicilio de estas personas y comunicarles la realización de los tratamientos para que tomaran las medidas de protección adecuadas.

No queda clara la eficacia de estos tratamientos. Bien es cierto que durante el año 2013 parece detectarse menor densidad de flebotomos entre los meses de mayo a agosto. Este descenso podría estar relacionado con actuaciones de modificación del medio o con una climatología más severa durante el invierno anterior.

Durante el año 2011 se diseñó una red de monitoreo mediante trampas de impacto impregnadas con aceite de ricino para la captura de flebotomos. Esta labor, junto con el monitoreo con trampas de luz, significa una labor importante tanto de técnicos municipales como de trabajadores adiestrados del área mantenimiento de parques y jardines. Han dado una información trascendental para centrar los esfuerzos en puntos de mayor concentración de vectores y conocer sus fuentes de alimentación y por tanto controlar las especies que estaban sirviendo



Figura 13. Actuaciones de control del vector.
Tratamientos de termonebulización en zonas del Parque Forestal Urbano de Bosque Sur próximas a edificios de Fuenlabrada.



Figura 14. Actuaciones de control del vector.
Información a la población previa a la realización de los tratamientos en parques del municipio. Parque Norte. Barrio El Naranjo. Fuenlabrada, junio de 2014.

como reservorios (primero liebres y posteriormente conejos) (figuras 15, 16 y 17).

Respecto al control del reservorio, teniendo en cuenta las publicaciones científicas relacionadas con la leishmaniasis, el reservorio clásico del parásito en los países del arco mediterráneo son los perros. La detección de casos en el hombre suele coincidir con un incremento en el número de casos en perros. Esta hipótesis de partida hizo que, coincidiendo con la campaña oficial de vacunación e identificación de animales de compañía, los municipios realizaran un

muestreo en perros de propietarios que asistían a esta campaña. Además de los perros de compañía, se localizaron otras concentraciones de perros tipo rehalas o jaurías, en las que también se ofreció la posibilidad de realizar test rápidos.

En primer lugar, la Comunidad de Madrid estableció el tipo de test rápido que se utilizaría en el muestreo y el número de muestras a realizar. La realización de la prueba era gratuita y voluntaria. Las condiciones para seleccionar a los perros fueron: animales de más de dos años, con residencia en los



Figuras 15 y 16. Actuaciones de control del vector.
Instalación de trampas de luz.

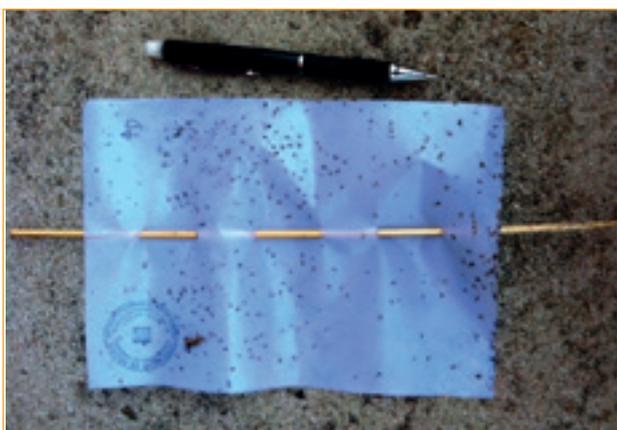


Figura 17. Actuaciones de control del vector.
Trampas de impacto con aceite de ricino instaladas en rejillas de ventilación de sótanos sanitarios de edificios.

municipios afectados. La selección se realizó al tiempo que se proporcionaban las citas para la campaña oficial de vacunación e identificación y se trasladaba información de la enfermedad a los propietarios. Los resultados que se iban obteniendo de los test rápidos no confirmaban la hipótesis de partida. Esto

supuso que, sobre la marcha, se decidiera la toma de muestras de sangre para confirmar resultados en laboratorio. No se obtuvieron resultados positivos en los test rápidos y esta circunstancia se confirmó a posteriori en laboratorio (figura 18).

Esta campaña también se realizó durante 2012, incrementando el número de test rápidos hasta 500 en el caso de Fuenlabrada e intentando seleccionar mayor número de mascotas con residencia en aquellos barrios de la ciudad que presentaban acumulación de casos en humanos. Los resultados obtenidos coincidían con los de la campaña de 2011. Durante el año 2013, el Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid cambió la metodología de la campaña oficial de vacunación de mascotas y fueron las clínicas veterinarias privadas con presencia en los municipios las encargadas de ejecutar estas acciones.

Puesto que no se cumplía la hipótesis de partida, fue necesario centrar la mirada en otros posibles reservorios que hasta el momento pudieran estar pasando inadvertidos. Se remitieron muestras de ratas capturadas en red de alcantarillado de la zona, y aunque el número de muestras remitidas no fue excesivo dada lo complicado que resulta su captura en vivo, los resultados indican que no tienen un pa-



Figura 18. Actuaciones de control de reservorios.

Sesión formativa para extracción de médula en perro y prueba de Xenodiagnóstico en liebres. Centros de animales de Fuenlabrada y Leganés. Año 2011.

pel como reservorios del parásito. Desde las primeras visitas a las zonas diana, los técnicos municipales alertaron de la importante presencia de liebres y conejos en el parque Polvoranca y Parque Forestal Urbano de Bosque Sur. El crecimiento en el número de estos animales se vio favorecido al tratarse de espacios protegidos en los que no se permite la caza, no existen depredadores naturales y no hay un plan de control de poblaciones (figura 19).

A finales de 2011 se plantea realizar un estudio de xenodiagnóstico en liebres para evaluar su papel como reservorio del parásito. Hay que tener en cuenta que las liebres hacen cama en superficie y tienen una mayor exposición a la picadura por parte de los flebotomos. De los resultados del estudio se da cuenta en otros capítulos de esta publicación, pero originaron el inicio de la captura de estos animales que, además, empezaban a ocasionar reclamacio-

nes al acceder a edificios y zonas verdes próximas al área diana. Por este motivo, se solicitó a la asociación gestora del coto de caza de Fuenlabrada, la reducción de población de liebres en su coto y en zonas próximas al casco urbano. Para facilitar estas actuaciones la Consejería de Medio Ambiente de la Comunidad de Madrid aprobó y publicó la Orden que establecía los términos municipales de la zona suroeste de la Comunidad de Madrid, como zonas de especial actuación.

Durante el año 2012, se realizó el mismo estudio de xenodiagnóstico en conejos, observando su capacidad como reservorios, aunque en un porcentaje menor que las liebres. La captura de conejos en algunos parques urbanos, márgenes de carreteras y zonas verdes periurbanas está resultando ser especialmente complicada. Inicialmente se intentó usando hurón y capillos, pero el número de captu-



Figura 19. Actuaciones de control de reservorios.

Sobrepoblación de liebres en el Parque Forestal Urbano de Bosque Sur. Año 2011.

ras era mínimo. Se pudo comprobar que los conejos permanecían la mayor parte del tiempo en el exterior de las madrigueras. Este cambio en el comportamiento de los animales podría estar relacionado con la ausencia de depredadores naturales, no son zonas de caza y no existen factores estresantes (figuras 20, 21, 22 y 23).

Durante el año 2013 y en la actualidad la estrategia de reducción de la población de conejos en las distintas zonas se ha modificado, facilitando la actuación de las asociaciones de cazadores, utilizando también perros de caza.

Nos encontramos, por tanto, un ciclo de transmisión de la enfermedad silvestre en el que especies autóctonas están actuando como reservorio. Estos datos también se confirman con los resultados de los análisis realizados en la sangre presente en el aparato digestivo de los flebotomos capturados con las trampas de luz.

Al mismo tiempo, desde principios de 2012, se está valorando el papel de los gatos callejeros en el ciclo. Se ha elaborado un plano de presencia de colonias de gatos callejeros en los municipios y se están remitiendo muestras de sangre para conocer



Figura 20. Actuaciones de control de reservorios.

Captura de liebres con redes en el Parque Forestal Urbano de Bosque Sur. Se realiza extracción de sangre en los ejemplares capturados y prueba de Xenodiagnóstico con los ejemplares positivos al test rápido de leishmaniasis.



Figura 21. Actuaciones de control de reservorios.

Captura de conejos con hurón y capillos en el espacio de 500 m de seguridad alrededor de los cascos urbanos (parque de La Olla, Fuenlabrada).



Figura 22. Actuaciones de control de reservorios. Captura de conejos con hurón y capillos en los márgenes de las carreteras. Leganés.



Figura 23. Actuaciones de control de reservorios. Caza de conejos con perro. Parque Forestal Urbano de Bosque Sur y parque de La Olla. 2013. Se cuenta con la colaboración de la Asociación de cazadores de Fuenlabrada.

la prevalencia de la enfermedad en estos animales. Los resultados obtenidos de las pruebas realizadas en gatos callejeros se han descrito en otros capítulos de la presente publicación. El control de las colonias de gatos callejeros pasa por concienciar a las personas alimentadoras y asociaciones de protección animal, de los problemas que ocasionan. Estas intervenciones están ocasionando reclamaciones y movimientos de oposición al entender que la opción debe ser capturar-esterilizar-soltar. Este tipo de intervención, si no existen nuevas aportaciones a la colonia, hace que se reduzca a largo plazo el tamaño de la colonia. Pero, dada la situación existente,

utilizar este sistema no implica una reducción inmediata del número de gatos callejeros que, desde el punto de vista de la salud pública, es lo deseable para reducir riesgos.

Junto a todas estas actuaciones se diseñó una campaña conjunta de **comunicación e información a la población**. Se informó a grandes centros comerciales y empresas de los municipios que cuentan con importantes extensiones de áreas verdes, solicitando su colaboración para realizar medidas de limpieza, saneamiento y desinsectación en dichas áreas, incluidos imbornales y canaletas. Se comunicaron recomendaciones de mantenimiento de zonas

ajardinadas a comunidades de vecinos y administradores de fincas así como a empresas. Se publicaron artículos relativos a la protección de los ciudadanos ante los flebotomos en las revistas y webs municipales. Se repartieron trípticos y pósters por todos los centros municipales y centros educativos “La leishmaniasis, cómo protegerte”. Se instalaron pósters informativos a la entrada de los grandes parques urbanos con recomendaciones.

Se trasladó información en las reuniones de los Consejos Locales de Salud que se reúnen periódicamente y cuentan con la participación del tejido asociativo (de vecinos, de enfermos, de tercera edad, de mujeres, de inmigrantes...), de los hospitales del Área, de los partidos políticos y de los sindicatos. Se pretendía usar a los participantes como agentes de transmisión de la información.

En la primera fase del brote, esta labor informativa fue bastante frustrante. La población no era consciente del riesgo y la información no llegaba adecuadamente. Se generaban alertas y afluencia de llamadas cuando la noticia saltó a los medios de comunicación. Las personas que contactaban, por distintas vías, con los servicios municipales desconocían la enfermedad en humanos (si conocían la enfermedad en perros) y solicitaban la realización de tratamientos de desinsectación para controlar la población de flebotomos. Fue necesario realizar un importante trabajo, persona a persona, hasta que se empezaron a utilizar sistemas de autoprotección. Aún así, a día de hoy, sigue habiendo una parte de la población que reconocer no tener conocimiento del problema.

Conclusiones

La intervención municipal ha sido y será fundamental en la prevención y desarrollo del brote de leishmaniasis en humanos y en base a la valoración de las diferentes actuaciones realizadas y la experiencia de colaboración entre los ayuntamientos implicados y las consejerías intervinientes, Salud y Medio Ambiente, durante estos años de actuaciones, emitimos las siguientes conclusiones:

1. Consideramos fundamental la creación de un grupo formal de técnicos municipales coordinados por la Consejería de Sanidad que permita intercambiar información e intervención rápida en caso de alerta sanitaria. Existe consenso científico respecto a la importancia que tendrán en el futuro enfermedades de transmisión por vec-

tores que se verán favorecidas por el escenario de cambio climático actual.

2. Diseño de planes de vigilancia de vectores de importancia en salud pública a nivel comunidad autónoma y municipios, coordinados, con agilidad en la transmisión de la información.
3. Realización de un estudio de impacto ambiental en relación con la fauna salvaje en los grandes parques urbanos y periurbanos, a fin de tener una valoración real que permita el control sostenido de la citada fauna, manteniendo en el tiempo las actuaciones y dotando económicamente estas actuaciones, instando a los responsables de infraestructuras existentes en los municipios a realizar control de población de reservorios.
4. Antes de realizar una modificación de un territorio tan importante como la descrita en el presente caso, desarrollar un estudio de impacto ambiental incluyendo los antecedentes históricos de los problemas de salud de la zona. No tiene el mismo impacto desarrollar un parque urbano tradicional que desarrollar un parque forestal urbano, que no tiene el mismo mantenimiento, enclavado entre núcleos de población tan importantes como Fuenlabrada, Leganés y Getafe y tan próximo a viviendas.
5. Colaboración entre las administraciones y los distintos agentes relacionados con la salud presentes en el territorio para facilitar las actuaciones en casos de alerta sanitaria. Se considera muy importante llegar a desarrollar la “Red de Veterinarios Centinela” que informen de la evolución de la enfermedad en sus consultas privadas.
6. Es imprescindible contar con el asesoramiento de expertos desde el principio de las alertas y mantener la visión abierta a otros posibles factores que puedan estar influyendo en los ciclos de enfermedades como la presente. También es imprescindible la transmisión de la información y experiencias como la que aquí se describe.
7. Consideramos imprescindible incrementar la vigilancia medioambiental, por parte de todas las administraciones, para evitar la existencia de escombreras próximas a los núcleos de población.
8. No se nos puede olvidar la importancia de trasladar a la población la experiencia, para dotarla de las herramientas adecuadas que faciliten su autoprotección ahora y en el futuro.

3. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Publicaciones

Molina R, Jiménez MI, Cruz I, Iriso A, Martín-Martín I, Sevillano O et al. The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania infantum* in Spain. *Veterinary Parasitology* 2012 May 23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vepar.2012.05.006>

Vilas F, Carpintero J, Sevilla S, Martínez A, Ordoñas M, Bernal J, Díaz R, Iriso A, Sevillano O, Escacena C, De la Fuente S, Arce A, Estirado A, Frutos J, Fúster F. Brote de Leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid. Medidas de investigación y control medioambiental. *Profesión Veterinaria*, Año 17, nº 79, Noviembre 2012 - Febrero 2013.

Jiménez M, González E, Iriso A, Marco E, Alegret A, Fúster F & Molina R. Detection of *Leishmania infantum* and identification of blood meals in *Phlebotomus perniciosus* from a focus of human leishmaniasis in Madrid, Spain. *Parasitology Research*. Marzo 2013.

Arce A, Estirado A, Ordoñas M, Sevilla S, García N, Moratilla L, De la Fuente S, Martínez AM, Pérez AM, Aránguez E, Iriso A, Sevillano O, Bernal J, Vilas F. Re-emergence of leishmaniasis in Spain: community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Eurosurveillance*, Vol.18, Weekly issue 30, 25 July 2013.

Chicharro C, Llanes-Acevedo IP, García E, Nieto J, Moreno J, Cruz I. Molecular typing of *Leishmania infantum* isolates from a Leishmaniasis outbreak in Madrid, Spain 2009-2012. *Eurosurveillance*. Vol.18, Weekly issue 30, 25 July 2013.

Moreno I, Álvarez J, García N, De la Fuente S, Martínez I, Marino E, Toraño A, Goyache J, Vilas F, Domínguez L, Domínguez M. Detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in sylvatic lagomorphs from an epidemic area of Madrid using the indirect immunofluorescence antibody test. *Veterinary Parasitology*, Vol. 199, 31 January 2014.

García N, Moreno I, Alvarez J, De la Cruz MA, Navarro A, Pérez-Sancho M, García-Seco T, Rodríguez-Bertos A, Conty MA, Toraño A, Prieto A, Domínguez L, Domínguez M. Evidence of *Leishmania infantum* infection in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in a natural area in Madrid, Spain. *BioMed Research International*, Vol. 2014, Article ID 318254, 3 March 2014.

Jiménez M, González E, Martín-Martín I, Hernández S, Molina R. Could wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) be reservoirs for *Leishmania infantum* in the focus of Madrid, Spain?. *Veterinary Parasitology*, Vol. 202, issues 3-4, 28 May 2014.

Aránguez Ruiz E, Arce Arnáez A, Moratilla Monzo L, Estirado Gómez A, Iriso Calle A, De la Fuente Ureña S, Soto Zabalgogezcoa MJ, Fuster Lorán F, Ordoñas Gavín M, Martínez Serrano AM, Vilas Herranz F. Análisis espacial de un brote de leishmaniasis en el sur del Área metropolitana de la Comunidad de Madrid. 2009-2013. *Rev salud ambient*. 2014; 14(1):39-53.

Tello, A., González-Mora, D., Outerelo, R., Iriso, A. & Vázquez, M.A. Los flebotomos del brote de leishmaniasis en el suroeste de la Comunidad de Madrid (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Boletín Real Sociedad Española de Historia Natural, Sección Biól*. 2015. 109: 57-64.

Simposio

Organización de la mesa de ponencias "Spanish outbreak, en el Internacional Symposium on "Visceral leishmaniasis outbreaks" celebrado en Madrid, en marzo 2012 y organizado por World Health Organization, el Instituto de Salud Carlos III y la Red de Investigación Cooperativa en Enfermedades Tropic

Comunicaciones

García N, Moratilla L, de la Fuente S, Martínez A. Brote de leishmaniasis en el área 9 de salud de la Comunidad de Madrid. Años 2010-2011. Comunicación cartel al Congreso de la Sociedad Española de Epidemiología, Madrid octubre 2011.

Arce Arnáez A, Estirado Gómez A, García Marín N, Moratilla Monzo L, Ordoñas Gavín M, Martínez Serrano A, Pérez Meixeira A, Pichiule Castañeda M, Bernal Grávalos J, et al. Brote comunitario de leishmaniasis en la zona suroeste de la Comunidad de Madrid. Comunicación oral al Congreso de la Sociedad Española de Epidemiología, Santander octubre 2012.

Aránguez E, Fúster F, Estirado A, Obradors JM, san Martín MA, Junco A. Análisi espacial de un brote de de leishmaniasis en la Comunidad de Madrid.

Comunicación oral al Congreso Español de Salud Ambiental, Granada junio 2013.

Estirado A, Arce A, Ordobás MA, García N, Moratilla L, Pérez AM, Iglesias MJ, Gil E, Aragón A. "Leishmaniasis visceral en la Comunidad de Madrid: casos esporádicos versus asociados (2009-2014)". Comunicación oral a la XXXII Reunión Científica de la Sociedad Española de Epidemiología. IX Congreso da Associação Portuguesa de Epidemiologia. Alicante, 3-5 de septiembre, 2014.

Pósters

Jiménez M, González E, Hernández S, Iriso A, Fuster F, Molina R. Seasonal dynamics, rates of infection, and host-feeding preferences of *phlebotomus perniciosus* in a new focus of leishmaniasis in Madrid, Spain. Presentando en el Congreso mundial de Leishmania, Brasil mayo 2013.

Miró G, Carpintero J, Sevilla S, Martínez A, Fuster F, Ordobás M, Díaz R, De la Fuente S, Perote M, Arce A, Iriso A, Escacena C, Estirado A, Marino E, Vilas F. Environmental management of an outbreak

of human leishmaniasis in the Community of Madrid (Spain). Presentando en el Congreso mundial de Leishmania, Brasil mayo 2013.

Gálvez R, Müller A, Montoya A, Checa R, Marino V, Marino E, Escacena C, Miró G. Papel del perro en el brote de leishmaniasis humana de la Comunidad de Madrid: El perro vagabundo como centinela. Presentado en el XIX Congreso de la Sociedad Española de Parasitología, Vitoria julio 2015.

Chicharro C, Nieto J, Fúster F, Marino E, Migueláñez S, Martín C, Ortega S, García E, Llanes-Acevedo IP, Flores-Chávez M. New and traditional reservoirs of leishmaniasis: Experience in the Sout-West of Madrid Autonomous Community, Spain. European Congress of Clinical Microbiology and Infections Diseases (ECCMID), Amsterdam-Netherlands April 2016.

Miró G, Müller A, Montoya A, Checa R, Marino V, Escacena C, De la Cruz M, Gálvez R. The role of stray dogs on human leishmaniasis outbreak in Madrid. Fourth International Society for Companion Animal Infections Diseases Symposium (ISCAID), Bristol UK October 2016.

